



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

“RELAÇÃO ENTRE DOENÇA ASSOCIADA AO PARTO (DAP) E PARÂMETROS
BIOLÓGICOS, METABÓLICOS E DE FERTILIDADE EM VACAS DE ELEVADA
PRODUÇÃO LEITEIRA”

Luís Nuno Fernandes Barros

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Luísa Maria Freire Leal Mateus

Doutor Luís Filipe Lopes da Costa

Doutor George Thomas Stilwell

ORIENTADOR

Doutor Luís Filipe Lopes da Costa

2010

LISBOA



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

“RELAÇÃO ENTRE DOENÇA ASSOCIADA AO PARTO (DAP) E PARÂMETROS
BIOLÓGICOS, METABÓLICOS E DE FERTILIDADE EM VACAS DE ELEVADA
PRODUÇÃO LEITEIRA”

Luís Nuno Fernandes Barros

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Luísa Maria Freire Leal Mateus

Doutor Luís Filipe Lopes da Costa

Doutor George Thomas Stilwell

ORIENTADOR

Doutor Luís Filipe Lopes da Costa

2010

LISBOA

Agradecimentos

Ao Professor Doutor Luís Costa pela oportunidade que me concedeu ao aceitar orientar o meu estágio curricular, pelo seu exemplo de rigor e profissionalismo, bem como pela paciência, disponibilidade e boa disposição demonstradas ao longo de todo o estágio.

Ao Dr. João Paisana e ao Sr. José Alberto por, gentilmente, terem disponibilizado as suas explorações como local de estágio.

Aos meus Pais e ao meu Irmão por todo o amor e ajuda incondicionais.

Às minhas avós e aos meus tios e primos por todo o apoio desde sempre.

À Dra. Ana e à Dra. Mariana, ao Doutor João Nestor, à Professora Doutora Luísa Mateus e à Cristina pela atenção e auxílio prestados sempre que solicitado.

À Eng. Patrícia Diniz pela preocupação, simpatia, disponibilidade e por nunca ter deixado de me ajudar mesmo nos momentos em que esteve ausente.

Ao Sr. Rodolfo, ao Sr. Pedro e ao Sr. Fernando por terem tornado os meus dias de trabalho durante o estágio mais animados e bem-dispostos.

A todos os meus colegas que contribuíram para que estes 6 anos de curso se tornem inesquecíveis, em especial:

À Inês Salvado e à Madalena Centeno pelas longas horas de estudo, pela amizade, companheirismo e disponibilidade principalmente nos momentos mais difíceis.

Ao Tiago Oliveira, ao David Lopes, ao Ricardo Orvalho, ao Carlos Baptista ao João Vieira Lopes e à Carolina Balão pela boa disposição e alegria dentro e fora da faculdade.

À Helena, à Joana Vieira e à Adriana pelos importantes conselhos e “dicas” que tornaram mais fácil a elaboração desta dissertação.

À Márcia pelo incentivo, paciência e apoio que me ajudaram a concluir este caminho com um sorriso no rosto.

A todos os meus amigos que ao longo dos anos me têm acompanhado e com quem espero continuar a caminhar lado a lado nos caminhos da vida.

Resumo

Relação entre Doença Associada ao Parto (DAP) e parâmetros biológicos, metabólicos e de fertilidade vacas de elevada produção leiteira.

O estudo foi realizado em duas explorações de bovinos de leite de alta produção e teve como objectivo avaliar a relação entre a incidência das Doenças Associadas ao Parto (DAP) e parâmetros biológicos (temperatura corporal, score vaginal, score uterino) metabólicos (condição corporal e concentrações de β -hidroxibutirato e ureia) e de fertilidade (intervalo parto-serviço, taxa de concepção e taxa de refugo) em vacas *Holstein-Frisian*. Foram incluídas 186 fêmeas que completaram a gestação durante o decorrer do estudo.

As concentrações plasmáticas de β -hidroxibutirato ao D10pp correlacionaram-se significativamente ($P = 0,002$; $r = 0,22$) com a condição corporal ao parto. A concentração plasmática daquele metabolito foi tendencialmente ($P = 0,074$) maior nas vacas com deslocamento do abomaso à esquerda do que nas vacas sem DAP. As concentrações plasmáticas de ureia ao D10pp e D30pp foram significativamente maiores ($P < 0,05$) nas vacas com involução cervico-uterina e cíclicas ao D30pp do que nas vacas com involução cervico-uterina retardada e acíclicas. Vacas com DAP ($n = 58$; 31,2%) apresentaram menor condição corporal ao parto e ao Dia 30 pós-parto (D30pp), maior “score” vaginal ao D4-6pp, maior “score” uterino ao D30pp, menores concentrações plasmáticas de ureia ao D30pp e maior taxa de refugo, do que os animais que não registaram nenhuma doença. As vacas com endometrite ao D30pp ($n = 28$; 20%) significativamente apresentaram maior “score” vaginal ao D4-6pp e D10pp e uterino ao D30pp, involução cervico-uterina e retorno à ciclicidade retardadas em relação a vacas sem doença. As concentrações plasmáticas de ureia foram ($P \approx 0$) maiores no leite do que no plasma, embora correlacionadas positiva e significativamente. A variabilidade dos valores obtidos pela mensuração no leite foi superior à dos valores obtidos no plasma, o que indica ser o plasma sanguíneo a amostra mais indicada para a mensuração deste metabolito. As concentrações de β -hidroxibutirato no plasma (avaliadas por espectrofotometria) e no sangue (avaliadas por um aparelho portátil destinado a humanos diabéticos) estiveram significativamente correlacionadas ($r = 0,92$; $P \approx 0$), o que indica ser este último método uma forma expedita e precisa para o diagnóstico de campo da cetose sub-clínica e clínica.

Em conclusão, a ocorrência de DAP afectou negativamente os parâmetros biológicos, metabólicos e reprodutivos das vacas afectadas, sendo uma muito relevante causa de prejuízo económico na exploração leiteira de alta produção.

Palavras-chaves: ureia, β -hidroxibutirato, endometrite, DAP, índices reprodutivo

Abstract

Relationship between the occurrence of Calving-related-Diseases (CRD) and biologic, metabolic and fertility parameters in high-yielding dairy cows

The objective of this study was to evaluate the relationship between the occurrence of Calving-related-Diseases (CRD) and biologic (rectal temperature, vaginal and uterine scores), metabolic (body condition score, plasmatic concentrations of urea and β -hydroxybutyrate) and fertility parameters (calving-to-first-service interval, conception rate and culling rate) in high-yielding dairy cows. The study enrolled 186 females from two dairy herds.

The plasmatic concentrations of β -hydroxybutyrate at day 10 post-partum (D10pp) significantly correlated ($P = 0.002$; $r = 0.22$) with the body condition score at calving. The plasmatic concentrations of this metabolite were tendentially ($P = 0,074$) higher in cows with left displacement of the abomasum than in cows without CRD. The plasmatic concentrations of urea at D10pp and D30pp were significantly higher ($P < 0,05$) in cows with complete cervical-uterine involution and cyclic at D30pp than in cows with retarded cervical-uterine involution and acyclic. Cows with CRD ($n = 58$; 31,2%) presented significantly lower body condition score at calving and at D30pp, higher vaginal score up to D10pp and uterine score at D30pp, lower plasmatic concentrations of urea at D30pp and a higher culling rate than cows that did not present CRD. Cows with endometritis at D30pp ($n = 28$; 20%) presented significantly higher vaginal scores until D10pp and uterine score at D30pp, retarded cervical-uterine involution and return to cyclicity, compared to healthy cows. Urea concentrations were significantly ($P \approx 0$) higher in milk than in plasma, although positive and significantly correlated. Variation obtained in milk measurements was higher than in plasma measurements. The concentrations of β -hydroxybutyrate in the plasma (evaluated by spectrophotometry) and in the blood (evaluated by measuring device designed for diabetic humans) were significantly correlated ($r = 0.92$; $P \approx 0$), which indicates that this latter method is a reliable cow-side method to diagnose clinical and sub-clinical ketosis.

In conclusion, the occurrence of CRD negatively affected several biologic, metabolic and reproductive parameters in high-yielding dairy cows. Due to the prevalence of these diseases, this represents a relevant cause of economical loss in the high milk production dairy herd.

Keywords: urea, β -hydroxybutyrate, endometritis, CRD, fertility, dairy cattle.

Índice

| | |
|--|------|
| Índice de Tabelas | xi |
| Índice de Gráficos | xiii |
| Lista de Abreviaturas | xv |
| 1. Introdução | 1 |
| 2. Objectivos | 2 |
| 3. Relatório de estágio | 3 |
| 3.1 Duração e breve descrição dos locais de estágio | 3 |
| 3.2 Descrição das actividades desenvolvidas..... | 3 |
| 4. Revisão Bibliográfica | 6 |
| 4.1 Puerpério | 6 |
| 4.1.2 Retorno à ciclicidade..... | 7 |
| 4.1.3 Restabelecimento da fertilidade..... | 8 |
| 4.2 Doenças Associadas ao Parto (DAP)..... | 11 |
| 4.2.1 Retenção placentária (RP)..... | 11 |
| 4.2.2 Infecções uterinas (Metrite, Endometrite) | 12 |
| 4.2.3 Cetose..... | 13 |
| 4.2.4 Deslocamento do abomaso (DA)..... | 14 |
| 4.2.5 Outras..... | 14 |
| 4.2.6 Inter-relação entre doenças e efeito sobre a fertilidade | 15 |
| 4.3 Controlo do Periparto..... | 17 |
| 4.3.1 Programas profiláticos e seus componentes | 17 |
| 4.3.2 Análise custo-benefício..... | 21 |
| 4.4 Nutrição e fertilidade | 22 |
| 4.4.1 Energia, BEN e corpos cetónicos | 23 |
| 4.4.2 Proteína e urémia | 28 |
| 5. Trabalho Experimental | 33 |
| 5.1 Objectivo..... | 33 |

| | |
|--|----|
| 5.2 Desenho experimental | 33 |
| 5.3 Materiais e Métodos | 33 |
| 5.3.1 Explorações de vacas leiteiras | 33 |
| 5.3.2 Animais | 34 |
| 5.3.3 Métodos | 35 |
| 5.4 Análise estatística | 37 |
| 6. Resultados | 39 |
| 6.1 Relação entre a concentração de ureia no plasma e no leite ao D30pp | 39 |
| 6.2 Relação entre a concentração de ureia no plasma ao D10pp e D30pp | 40 |
| 6.3 Relação entre as concentrações sanguíneas de BHB determinadas pela técnica laboratorial e pelo “precision Xceed®” | 40 |
| 6.4 Prevalência das doenças associadas ao parto (DAP) | 41 |
| 6.5 Efeito da exploração nos Parâmetros biológicos, metabólicos e reprodutivos. | 42 |
| 6.6 Efeito da Doença Associada ao Parto nos parâmetros biológicos, metabólicos e reprodutivos | 43 |
| 6.7 Relação entre a presença de Endometrite ao D30pp e os parâmetros biológicos, metabólicos e reprodutivos | 44 |
| 6.8 Relação entre as concentrações de BHB ao D10pp e a Condição Corporal ao parto | 45 |
| 6.9 Relação entre as concentrações plasmáticas de BHB ao D10pp e a presença de Deslocamento de Abomaso | 46 |
| 6.10 Influência dos parâmetros metabólicos na Ciclicidade e na Involução cervico-uterina ao D30pp e na taxa de concepção à 1ª IA. | 46 |
| 7. Discussão | 47 |
| 7.1 Relação entre as concentrações de ureia no plasma e no leite ao D30pp | 47 |
| 7.2 Relação entre as concentrações sanguíneas de BHB determinadas pela técnica laboratorial e pelo “precision Xceed®” | 48 |
| 7.3 Prevalência das doenças associadas ao parto (DAP) | 48 |
| 7.4 Efeito da exploração nos parâmetros biológicos, metabólicos e reprodutivos | 48 |

| | |
|--|----|
| 7.5 Efeito da Doença Associada ao Parto nos parâmetros biológicos, metabólicos e reprodutivos | 49 |
| 7.6 Relação entre a presença de Endometrite ao D30pp e os parâmetros biológicos, metabólicos e reprodutivos | 50 |
| 7.7 Relação entre as concentrações de BHB ao D10pp e a Condição Corporal ao parto | 51 |
| 7.8 Relação entre as concentrações plasmáticas de BHB aos D10pp e a presença de Deslocamento de Abomaso | 51 |
| 7.9 Influência dos parâmetros metabólicos na Ciclicidade e na Involução cervico-uterina ao D30pp e na taxa de concepção à 1ª IA..... | 52 |
| 7.9.1 Influência dos parâmetros metabólicos na Ciclicidade e na Involução cervico-uterina. | 52 |
| 7.9.2 Influência dos parâmetros metabólicos na taxa de concepção à 1ª IA | 53 |
| 7.10 Relação entre Taxa de Concepção à 1ª IA e Ciclicidade e Involução Cervico-uterina ao D30pp..... | 53 |
| 8. Conclusão..... | 54 |
| 9. Bibliografia | 55 |
| Anexos | 64 |

Índice de Tabelas

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Resumo das actividades desenvolvidas durante o estágio | 5 |
| Tabela 2. Relação entre as concentrações de ureia no plasma e no leite ao D30pp | 39 |
| Tabela 3. Relação entre as concentrações de ureia no plasma..... | 40 |
| Tabela 4. Relação da concentração média de β -hidroxibutirato medida ao D8-10pp no plasma e no sangue periférico. | 40 |
| Tabela 5. Prevalência das DAP identificadas até ao D10pp..... | 41 |
| Tabela 6. Comparação dos parâmetros biológicos, metabólicos e reprodutivos entre a Exploração 1 e a Exploração 2 | 42 |
| Tabela 7. Relação entre a Doença Associada ao Parto e os parâmetros biológicos, metabólicos e reprodutivos | 43 |
| Tabela 8. Relação entre a presença de Endometrite ao D30pp e os parâmetros biológicos e reprodutivos recolhidos no decorrer do estudo..... | 44 |
| Tabela 9. Relação entre a concentração plasmática de β -hidroxibutirato ao D8-10pp e a CC ao parto | 45 |
| Tabela 10. Relação entre a concentração média de BHB no plasma entre o dia 8-10 pós-parto e a presença de DAE. | 46 |
| Tabela 11. Influência dos parâmetros metabólicos plasmáticas sobre a taxa de concepção à 1ª IA, a ciclicidade e a involução cervico-uterina ao D30pp..... | 46 |
| Tabela 12. Relação entre a Taxa de Concepção e a Ciclicidade uterina ao D30pp..... | 46 |
| Tabela 13. Relação entre a Taxa de Concepção e a Involução Cervico-uterina uterina ao D30pp..... | 46 |

Índice de Gráficos

| | |
|--|----|
| Gráfico 1. Regressão entre as concentrações de ureia plasmática e no leite ao D 30pp..... | 39 |
| Gráfico 2. Regressão entre os valores de ureia plasmática ao D10pp e D30pp..... | 40 |
| Gráfico 3. Regressão entre as concentrações de β -hidroxibutirato mensuradas por espectrofotometria no plasma e as obtidas no sangue periférico recorrendo ao Xceed®, no D10 pp..... | 41 |
| Gráfico 4. Regressão entre os valores das concentrações de β -hidroxibutirato plasmática ao dia 10 pós-parto e a condição corporal ao parto | 45 |

Lista de Abreviaturas

AC – Acetona
ACAC – Acetoacetato
AGNE – Ácidos gordos não esterificados
BEN – Balanço energético negativo
BHB – β – hidroxibutirato
Ca – Cálcio
CC – Condição coporal
DA – Deslocamento do abomaso
DAD – Deslocamento do abomaso à direita
DAE – Deslocamento do abomaso à esquerda
DAP – Doenças associadas ao parto
FDN – Fibra detergente neutro
FSH – Hormona folículo-estimulante
GH – Hormona de crescimento
IA – Inseminação artificial
IEP – Intervalo entre partos
IGF – Factor de crescimento de insulina
IPC – Intervalo entre parto e concepção
LH – Hormona luteinizante
MV – Médico Veterinário
OPU – Punção ovária transvaginal ecoguiada
P₄ – Progesterona
PB – Proteína bruta
PDR – Proteína degradável no rúmen
PG – Prostagladina
PG_{E2} – Prostaglandina E₂
PGF_{2 α} – Prostaglandina F_{2 α}
PMN – Polimorfonucleares neutrófilos
PNDR – Proteína não degradável no rúmen
PTH – Paratormona
RP – Retenção placentária
VLDL – Lipoproteínas de muito baixa densidade

1. Introdução

É reconhecido que a selecção de bovinos de leite foi acompanhada por uma redução da fertilidade e uma maior incidência de doenças. Os programas de selecção e melhoramento genético em vacas de leite, nas últimas décadas, têm tido como objectivo principal o aumento da produção de leite, e por isso, pouca foi a ênfase atribuída às características como a saúde e a eficiência reprodutiva (Berry *et al*, 2003).

Lucy (2005), citado por Spain, Lucy & Hardin (2007), sugere que níveis elevados de produção de leite não são o único factor a causar diminuição do desempenho reprodutivo. Também o manejo referente às instalações, saúde e nutrição influenciam a fertilidade. Desta forma, importa salientar que o manejo da eficiência reprodutiva deve ser uma preocupação constante nas explorações leiteiras e que a sua evolução deve acompanhar o avanço genético da produção de leite, de forma a maximizar os lucros da actividade.

Elevados níveis de produção leiteira, requerem elevados níveis de ingestão de alimento. Durante o periparto, as necessidades nutricionais aumentam, no entanto, neste mesmo período o animal experimenta uma diminuição da capacidade de ingestão, favorecendo a ocorrência de um balanço energético negativo (BEN). Este processo predispõe o animal a numerosas alterações biológicas e metabólicas podendo conduzir ao aparecimento de doenças associadas ao parto (DAP) e a uma diminuição dos índices de fertilidade (Spain *et al*, 2007).

Em síntese, o período de transição influencia a vaca leiteira a nível produtivo e reprodutivo no decorrer da lactação sendo por isso considerado um momento crucial no ciclo de produção da vaca. Durante este período os animais encontram-se em maior risco de desenvolver doenças devido às alterações metabólicas associadas ao parto e ao início da lactação. Para que tal não suceda, é necessária a implementação de programas de controlo apropriados, com o objectivo de maximizar o suprimento das necessidades nutricionais e metabólicas a que os bovinos de leite se encontram sujeitos (Melendez & Risco, 2005) de forma a rentabilizar o desempenho produtivo e reprodutivo e a maximizar o potencial económico da exploração.

2. Objectivos

Este trabalho teve por base o conjunto de actividades realizadas no decurso do estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária (MIMV) da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa.

A sua realização teve como objectivo principal avaliar a relação entre a incidência das doenças associadas ao parto (DAP) e parâmetros biológicos, metabólicos e de fertilidade em vacas de alta produção leiteira.

Pretendeu-se sobretudo avaliar:

- A prevalência de DAP, tais como retenção placentária, metrite, claudicação, cetose/deslocamento do abomaso nas duas explorações visitadas.
- A relação entre as DAP, a endometrite subsequente e a fertilidade através da análise e parâmetros biológicos (temperatura, “score” vaginal, “score” uterino), metabólicos (condição corporal e concentrações plasmáticas de ureia e β -hidroxibutirato) e reprodutivos (ciclicidade, involução cervico-uterina taxa de concepção à 1ª IA e taxa de refugo).

3. Relatório de estágio

3.1 Duração e breve descrição dos locais de estágio

O estágio teve a duração de seis meses e decorreu no período entre 1 de Outubro de 2009 e 31 de Março de 2010.

Foram três os locais onde o estágio se desenrolou. A exploração José Ribeiro Chula e filho, S.A.P. Lda., do proprietário José Alberto Ribeiro Chula, situada na Freguesia da Moita, no distrito de Setúbal, cuja actividade principal é a produção leiteira, com um efectivo de cerca de 750 vacas de raça *Frisian-Holstein*, dos quais aproximadamente 380 vacas se encontram à ordenha; A exploração Agro-Pecuária Afonso Paisana, S. A., propriedade do médico veterinário Dr. João Paisana, localizada na freguesia da Fajarda, concelho de Coruche, distrito de Santarém, cujo objectivo principal é a produção de leite. O seu efectivo é constituído por cerca de 500 animais de raça *Frisian-Holstein*, dos quais 240 se encontram à ordenha. Por fim a Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa, local onde foram realizados os ensaios laboratoriais, a prática de inseminação artificial em aparelhos reprodutores e a observação da técnica de punção ovárica transvaginal ecoguiada (OPU).

A supervisão e coordenação dos trabalhos efectuados durante o período de estágio, estiveram a cargo do Professor Doutor Luís Costa, orientador do estágio, que contou com a colaboração do Dr. João Paisana, no que respeita às actividades que decorreram na exploração Agro-Pecuária Afonso Paisana, S. A. e do Sr. José Alberto, do Sr. Pedro, do Sr. Rodolfo e do Sr. Fernando na exploração José Ribeiro Chula e filho, S.A.P. Lda.

3.2 Descrição das actividades desenvolvidas

No decorrer do estágio, para além das actividades inerentes ao tema em estudo, como o exame ginecológico ou o trabalho laboratorial, foi também possível observar e realizar outro tipo de tarefas que não estavam directamente relacionadas com aquele tema.

A título de destaque, realçam-se as seguintes actividades desenvolvidas:

- Acompanhamento semanal do programa reprodutivo, realizado na Agro-Pecuária Afonso Paisana, S. A pelo Dr. João Paisana, que consistia na elaboração de programas de sincronização de estro, recorrendo a dispositivos intra-uterinos, sendo, neste caso, usado o *Control Internal Drug Release*, mais conhecido por CIDR e a $PGF_{2\alpha}$; inseminação das vacas que apresentavam sinais de cio e realização do diagnóstico de gestação por ultrassonografia.
- Observação de 8 intervenções cirúrgicas, nomeadamente, a resolução de 2 prolapso uterinos, uma cesariana e 5 deslocamentos de abomaso à esquerda, os quais foram resolvidos

de formas variadas, um por abomasopexia percutânea com sutura de barras, três por omentopexia paralombar direita e, por fim, um por abomasopexia paramedial direita.

- Participação na resolução de 4 partos distócicos, incluindo uma distócia com desproporção feto-materna relativa, outra com apresentação longitudinal anterior e posição dorso-ilíaca, outra com apresentação longitudinal posterior e posição lombo-sagrada e, ainda, outra com apresentação longitudinal posterior e posição lombo-púbica.

- Observação de 8 programas de transferência de embriões, nomeadamente, ao nível de preparação do material, recolha de embriões, processo de filtração e selecção embrionária, bem como da visualização e classificação dos respectivos embriões, do critério de selecção de entrada das vacas no programa, como dadoras ou receptoras, e do processo de transferência propriamente dito. Nos casos em que se registou excesso de embriões colhidos, foi, ainda, possível acompanhar o processo de congelação dos mesmos. De igual modo, foram acompanhados todos os exames de ultrassonografia, com vista à monitorização da evolução da gestação, nas vacas receptoras, sujeitas a transferência.

- Exercício de inseminação artificial, que foi efectuado, primeiramente, em aparelhos reprodutivos provenientes do matadouro do Montijo e, posteriormente, em vacas de refúgio das explorações onde o estágio decorreu.

- Prática de exames ginecológicos, por palpação rectal e por exame ecográfico.

- Foi também feita uma transfaunação através da extracção e diluição do conteúdo ruminal de uma vaca, o qual foi administrado através de uma sonda gástrica a um animal doente.

Na tabela abaixo, apresenta-se uma síntese das actividades desenvolvidas durante o estágio.

Tabela 1. Resumo das actividades desenvolvidas durante o estágio

| Actividades realizadas | | Nº de ocorrências | |
|---|------------------------------------|---------------------|------------|
| Saneamento Bovinos | | 2 | |
| Recolhas de sangue | | 1447 | |
| Reprodução e Obstetrícia | | Realizadas | Observadas |
| Partos distócicos | | 4 | |
| Exame ginecológico | | | |
| | Por palpação rectal | 240 | 120 |
| | Por ecografia | 27 | |
| Programa de transferência de embriões | | | 8 |
| Endometrite | | | 27 |
| Mastite | | | 12 |
| Retenções placentárias | | | 25 |
| Diagnóstico de gestação | | | |
| | Por palpação rectal | 2 | |
| | Por ecografia | 1 | 400 |
| Quistos ovários | | 14 | |
| Prática de inseminação artificial | | | |
| | Aparelhos reprodutivos | 20 | |
| | Vacas de refugo | 8 | |
| Deslocamento de abomaso | | 20 | |
| Punção ovárica transvaginal ecoguiada (OPU) | | 2 | |
| Intervenções cirúrgicas | | | Observadas |
| | Deslocamento de abomaso à esquerda | | 5 |
| | Cesariana | | 1 |
| | Prolapsos uterinos | | 2 |
| Trabalho laboratorial | | Amostras realizadas | |
| | Urease-Berthelot Method (4 kits) | 920 | |
| | D-3-Hydroxybutyrate (5 kits) | 340 | |
| Claudicação/Ortopedia | | Realizadas | Observadas |
| | Aparo correctivo de cascos | 3 | 5 |
| Outros | | Realizadas | |
| | Transfaunação | 1 | |

4. Revisão Bibliográfica

4.1 Puerpério

4.1.1 Involução cervico-uterina

A involução uterina é o mecanismo que permite ao aparelho reprodutor feminino retomar a sua forma e dimensões não gravídicas, possibilitando a ocorrência de uma nova gestação. Durante o puerpério e período pós-parto subsequente, ocorre a regeneração do endométrio, a eliminação da contaminação bacteriana e o reinício da actividade cíclica ovárica (Sheldon, Williams, Miller, Nash, & Herath, 2008a). Quando a recuperação do útero para o seu estado não gravídico ocorre sem a presença de um processo patológico, este surge completamente palpável por volta dos 15 dias e o fluido intra-uterino desaparece por volta dos 14-18 (Drost, Thomas, Seguin & Troedsson, 2002). A redução das dimensões carúnculares, bem como a sua necrose e desprendimento, também são factores determinantes na regeneração do endométrio e, consequentemente, na involução uterina.

A expulsão da lóquia, corrimento uterino constituído por restos de membranas e líquidos fetais, tecidos maternos, sangue e muco (Hafez & Hafez, 2004), é feita pelas fibras musculares longitudinais e circulares existentes no miométrio. Com o avançar dos dias, este corrimento muda gradualmente a sua cor de vermelho-acastanhado para um amarelo-esbranquiçado de consistência mucosa (Sheldon, Lewis, LeBlanc, & Gilbert, 2006), podendo durar até cerca de quatro semanas após o parto em situações de uma involução uterina tardia (Drost *et al*, 2002).

O cérvix apresenta uma involução mais lenta que a do corpo e cornos uterinos. Em animais saudáveis, o cérvix tende a atingir um diâmetro de aproximadamente 5 centímetros por volta dos 40 dias, enquanto os cornos uterinos atingem entre 3 a 4 centímetros entre os 25 e os 30 dias de lactação (Mortimer, Farin & Stevens, 1997).

A prostagladina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) é uma das moléculas responsáveis pela involução uterina possuindo uma acção preponderante na eliminação da população bacteriana contaminante do útero. Madej, Kindahl, Woyno, Edqvist e Stupnicki (1984) e Lindell, Kindahl, Jansson e Edqvist (1982) mostraram que níveis elevados de $PGF_{2\alpha}$ diminuem o tempo necessário para uma completa involução uterina. No entanto, Mateus, Costa, Diniz e Ziecik (2003) apresentam um estudo onde mostram que vacas que desenvolveram endometrite surgiram com elevadas concentrações de 13,14-dihydro-15-keto- $PGF_{2\alpha}$ (PGFM), um metabolito da $PGF_{2\alpha}$, no plasma, concluindo que as concentrações de PGFM se encontravam relacionadas com o grau de endometrite. Kindahl, Odensvik, Aiumlamai & Fredriksson, (1992), citados por Mateus, Lopes da Costa, Bernardo & Robalo Silva (2002a), descrevem que, em vacas com puerpério normal, a amplitude e duração da libertação de $PGF_{2\alpha}$ apresenta uma

correlação negativa com o tempo necessário para uma involução uterina completa, enquanto em vacas com um puerpério anormal a correlação é positiva.

4.1.2 Retorno à ciclicidade

O recomeço da actividade ovária é um dos eventos mais importantes na actualidade no que diz respeito às vacas altas produtoras de leite, pois dele depende a recuperação do potencial reprodutivo máximo da vaca após o parto (Opsomer *et al*, 2000). No final da gestação, devido ao *feed-back* negativo contínuo no eixo hipotálamo-hipofisário exercido pela elevada concentração de esteróides, nomeadamente, da progesterona, o hipotálamo passa por um período refractário. A primeira onda folicular surge por volta do sétimo ao décimo quarto dia do pós-parto, como resultado do aumento da concentração da hormona folículo-estimulante (FSH) (Savio, Boland, Hymes & Roche 1990 citados por Noakes 2009b).

Gradualmente, a secreção de FSH é suprimida, pela acção da inibina e do estradiol produzidos pelos folículos em crescimento. Deste modo, apenas um folículo, geralmente o de maiores dimensões, tem a capacidade de desenvolver um número suficiente de receptores para a hormona luteinizante (LH) e para as proteases da proteína de ligação do factor de crescimento da insulina (IGF-I). Desta forma, é possível manter altos os níveis de bioactividade da IGF-I através da degradação das proteínas de ligações da IGF (Roche, 2006). Assim, o desenvolvimento folicular fica dependente, principalmente, das alterações parácrinas e da frequência dos pulsos de LH. O destino deste crescimento folicular é a formação do folículo dominante. Devido à redução sistémica da secreção de FSH, os restantes folículos, uma vez que não desenvolveram um número suficiente de receptores para as hormonas anteriormente referidas, ficam com o seu crescimento comprometido (Roche, 2006).

A ovulação encontra-se dependente de alguns factores, como o tamanho do folículo dominante, a frequência dos pulsos de LH e a concentração de IGF-I. Na altura da ovulação, a dimensão do folículo dominante pode atingir cerca de 1,2 a 2 cm (Fortune, Sirois & Quirk, 1988; Savio, Keenan, Boland & Roche, 1988 e Ginther, Kastelic & Knopf, 1989 citados por Noakes, 2009a). Para que ocorra ovulação, é necessária uma frequência de pulsos de LH de hora a hora. O IGF-I é responsável pela estimulação da granulosa, promovendo a acção da aromatase e, consequentemente, a síntese do estradiol. O estradiol, por seu lado, aumenta o efeito do feed-back positivo sobre a secreção de LH pré-ovulatória (Adams 1999 citado por Noakes 2009b). Após o parto, muitas das ovulações associadas aos primeiros folículos dominantes, não levam a comportamento de cio (ovulação silenciosa). Devido ao anestro pós-parto não há uma prévia exposição do sistema nervoso central à progesterona, pelo que não

ocorre a expressão dos sinais de estro típicos (Moller 1970, King, Hurnik & Robertson, 1976; Kyle, Callahan & Allrich, 1992 citados por Noakes 2009b).

No puerpério, a primeira ovulação é acompanhada por uma fase lútea que pode desenvolver-se com uma duração normal de 18 a 24 dias ou, então, pode sofrer uma redução e ficar com apenas 14 dias. Terqui, Chupin e Gauthier, (1982) citados por Noakes (2009b) sugerem que quanto mais cedo for o retorno da actividade ovárica, maior será a frequência de uma fase lútea com um intervalo de tempo menor.

Neste período, as interacções entre o útero e os ovários são bastante evidentes e influenciam, de certa forma, a retoma da actividade ovárica. Sabe-se que o ovário do lado adjacente ao corno que esteve gravídico (ovário ipsilateral) apresenta-se menos activo em comparação com o ovário contra-lateral. O corno gravídico anterior influencia negativamente o retorno à ciclicidade do ovário ipsilateral, contudo este efeito vai-se esbatendo à medida que o tempo no pós-parto aumenta (Saldudm, Riesen, Tyler & Caslda, 1967; Marron & Gler 1968 citados por Sheldon, Noakes & Dobson, 2000). Assim, a emergência dos folículos dominantes e a maioria das ovulações ocorrem preferencialmente no ovário contra-lateral ao corno uterino que ficou gestante. Este efeito tende a persistir nos primeiros 20-30 dias do período pós-parto (Nation, Burke, Rhodes & MacMillan, 1999 citados por Noakes 2009b).

No entanto, como resultado das diferenças na foliculogénese dos dois ovários, a presença de folículos >8mm de diâmetro entre os dias 14 e 18 após o parto no ovário ipsilateral, por norma, encontram-se associados a uma melhor fertilidade, dando origem a um intervalo entre parto e concepção mais pequeno e a uma melhor taxa de gravidez (Sheldon *et al*, 2000). Este facto, pode ser explicado pela influência exercida pelo folículo no endométrio e/ou miométrio.

Uma possível hipótese é que a produção de estradiol por parte do folículo >8mm de diâmetro tem um efeito local benéfico no útero. A concentração plasmática de estradiol é maior na veia útero-ovária do lado do ovário que possui o folículo ovulatório (Sheldon *et al*, 2000).

4.1.3 Restabelecimento da fertilidade

Em vacas leiteiras, a fertilidade no pós-parto pode ser definida como a capacidade do animal engravidar e manter a gestação quando o serviço é realizado com a técnica apropriada e na altura indicada em relação à ovulação. Para tal, é necessário que o óvulo esteja apto a ser fertilizado, que o ambiente uterino seja o indicado e que a secreção de progesterona seja feita de modo que o embrião se desenvolva normalmente (Darwash, Lamming & Wolliams 1997).

O intervalo entre o parto e a primeira ovulação tem aumentado nas vacas de alta produção de leite (Butler & Smith 1989; Lucy 2001). Reist, Koller, Busato, Küpfer e Blum (2000)

consideram que o recomeço do ciclo éstrico é óptimo quando ocorre nos trinta dias que procedem o parto. Outros artigos referem o prazo de três (Kawashima *et al*, 2006) ou quatro semanas (Huszenicza *et al*, 2005) como factor de classificação do atraso ou não atraso da ovulação.

Ao longo do tempo, diversos estudos, Thatcher e Wilcox (1973), Staples, Thatcher e Clark (1990) e Gautam, Nakao, Yamada & Yoshida (2010), foram concluindo que os níveis de fertilidade parecem estar directamente relacionados com o número de ciclos éstricos completos antes da primeira inseminação. Deste modo, conclui-se que um maior número de ciclos estricos sucessivos, antes do primeiro serviço, resulta numa maior quantidade de estradiol e progesterona circulante. Este facto influencia, de uma forma positiva, o ambiente no oviduto e no útero melhorando a qualidade do oócito e a sobrevivência e crescimento do embrião, aumentando a taxa de concepção (Thatcher & Wilcox 1973; Lamming & Darwash 1998).

4.1.3.1 A influência do ambiente uterino

O intervalo entre o parto e a ovulação é um dos parâmetros que tem relação com a fertilidade (Darwash *et al*, 1997). Pensa-se que esta interacção tem como base o possível relacionamento existente entre o estado da involução uterina, a actividade ovária e o posterior desempenho reprodutivo do animal. Com efeito, a actividade ovária é influenciada pelos níveis de prostagladina produzida no útero, por isso, um reinício antecipado da actividade ovária pode conduzir a um apressar da involução uterina devido ao efeito que o estrogénio e a progesterona exercem no útero (Lamming & Darwash 1998; Gautam *et al*, 2010). Também uma involução uterina precoce pode ser precursora de um começo antecipado da actividade lútea o que provoca um aumento da fertilidade (Thatcher & Wilcox 1973; Staples *et al*, 1990) uma vez que também aumentam as hipóteses de uma inseminação num intervalo de tempo menor, a taxa de concepção e a redução do número de serviços por concepção (Darwash *et al*, 1997).

4.1.3.2 A influência da persistência do corpo lúteo

Devido ao facto destas alterações se manifestarem frequentemente no período correspondente ao pico de lactação ou na altura da primeira inseminação, a sua acção negativa sobre a fertilidade tem assumido um papel importante (Gautam *et al*, 2010)

Está demonstrado que, nos casos em que o primeiro ciclo éstrico e/ou os subsequentes desenvolvam fases lúteas persistentes, superiores a 19 dias, o número de animais aptos ao serviço e a taxa de concepção por serviço diminui. Ao mesmo tempo, ocorre um aumento no

intervalo entre parto e concepção e no número de serviços por concepção apresentando-se os níveis de fertilidade, bem como a taxa de sobrevivência do embrião, drasticamente reduzidas (Lamming & Darwash, 1998).

Por outro lado, Kawashima e co-autores (2006) demonstraram que ovulações demasiado cedo, antes das três semanas, também se encontram associadas a uma redução da taxa de gestação e a um prolongado intervalo entre o parto e a concepção, sugerindo que a actividade lútea precoce pode desenvolver um impacto negativo na involução uterina.

A piómetra é caracterizada pela acumulação de material purulento ou mucopurulento dentro do lúmen uterino promovendo a sua distensão. Esta afecção encontra-se associada com a persistência do corpo lúteo (Sheldon *et al*, 2006). Nas situações em que a primeira fase folicular e ovulação ocorrem demasiado cedo, antes da eliminação completa da contaminação uterina, origina-se um processo inflamatório capaz de fazer cessar a produção de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Nestas situações, o corpo lúteo tende a persistir, devido à inexistência de produção de $\text{PGF}_{2\alpha}$, (Parkinson, 2009a). Sheldon *et al*, (2006) sugerem que é a presença desta estrutura, juntamente com a secreção constante de P_4 que é responsável pela formação de piómetra. No entanto, Mateus, Lopes da Costa, Alfaro Cardoso & Robalo Silva, (2002b) mostraram que embora a taxa de concepção à 1ª IA seja negativamente afectada quando realizada precocemente, o intervalo parto-concepção é significativamente diminuído nestas vacas em comparação com contemporâneas inseminações mais tardiamente após o parto.

4.1.3.3 A influência da nutrição

O BEN e a ingestão de dietas ricas em proteína, fornecidas regularmente a vacas de alta produção durante o pós-parto, promovem alterações metabólicas e bioquímicas (Butler, 2000), interferindo com a qualidade do oócito e do embrião e alterando a composição do fluido uterino e folicular (Leroy *et al*, 2004). Os oócitos e os embriões são altamente sensíveis as estas alterações, o que pode conduzir a um distúrbio nas fases de maturação, fertilização e clivagem (Leroy, Van Soom, Opsomer, Goovaerts & Bols, 2008b).

Num estudo realizado por Leroy e colegas (2004), o qual incidiu sobre as alterações sofridas no fluido folicular, em consequência das alterações metabólicas a que a vaca de alta produção se encontra sujeita, os resultados demonstraram que, as variações que ocorrem no soro sanguíneo reflectem-se nas concentrações de glucose, BHB e ureia encontradas no fluido folicular, podendo esta relação estar directamente relacionada com patogénese da sub-fertilidade em vacas altas produtoras de leite. Também num outro estudo efectuado por Taylor, Beever, Bryant e Wathes (2003) detectou-se que, em virtude da sua alimentação, as vacas com maior produção de leite, com menor ingestão de matéria seca no início da lactação

e com maiores perdas de condição corporal no periparto, apresentando períodos prolongados de BEN, desenvolviam um maior atraso na ciclicidade.

4.2 Doenças Associadas ao Parto (DAP)

O puerpério ocorre no denominado período de transição. De acordo com Melendez e Risco (2005), citando Goff e Horst (1997) e Grummer (1995), o período de transição em vacas leiteiras compreende as três semanas que antecedem e as três que procedem o parto.

Neste intervalo de tempo, as vacas sofrem uma diminuição da resposta imunológica. Este estado de imunossupressão em que o animal se encontra, devido à diminuição da actividade dos neutrófilos e dos linfócitos (Kehrli, Nonnoecke & Roth *et al*, 1989, citado por Vaun Saun 2007), juntamente com as privações dietéticas inerentes à diminuição do apetite e das alterações hormonais e metabólicas a que a vaca leiteira está sujeita no início da lactação, predispõem a um aumento acentuado do risco de contrair uma doença que influencia negativamente a resposta produtiva e reprodutiva (Vaun Saun, 2007). Segundo Goff e Horst (1997) e Drackley (1999), as doenças mais importantes a ter em conta são a febre do leite ou hipocalcémia, cetose, retenção placentária (RP), metrite, mastite e deslocamento do abomaso (DA).

Abordaremos resumidamente a RP, infecções uterinas e cetose/DA por estarem directamente relacionadas com o trabalho desenvolvido.

4.2.1 Retenção placentária (RP)

Considera-se que uma vaca apresenta RP sempre que o destacamento das membranas fetais (cotilédones) das carúnculas maternas se prolonga por um período superior às primeiras 12 a 24 horas após o parto (Melendez & Risco, 2005), ou, segundo Hillman e Gilbert (2008), se se verificar uma retenção superior a um período entre as 8 a 12 horas.

A maioria dos animais não apresenta sinais clínicos significativos. Os sinais mais evidentes são corrimento com cheiro fétido e tecido placentário suspenso da vulva (Seguin, Troedsson, Hoper, Blanchard & Varner, 2002; Hillman & Gilbert, 2008).

A prevalência de RP considera-se normal entre os 2-5% (Sheldon, Williams, Miller, Nash & Herath, 2009a) no entanto, o risco de desenvolver RP é maior em casos de distócia (25-50%), partos gemelares (30-50%) e em situações de calor (24%) (Parkinson, 2009a). Os factores causais a ter em conta numa RP são aqueles que interferem com a separação dos cotilédones fetais das carúnculas uterinas ou com a contractilidade uterina, principalmente durante o terceiro estadio do parto. Vários são os possíveis factores que podem influenciar o destacamento dos cotilédones tais como, a concentração de estrogénios, a produção de

prostaglandinas, o déficit da acção proteolítica e das collagenases em particular e a supressão do sistema imunitário (Parkinson, 2009a). Em animais sem tratamento, a expulsão da placenta pode demorar cerca de 3 a 12 dias consoante a evolução da necrose das carúnculas.

O risco de ocorrência de RP pode elevar-se na presença de gestação de gémeos, partos prematuros ou tardios, cesarianas, stress induzido pelo calor, partos induzidos por fármacos, partos distócicos, hipocalcémia, dieta inapropriada no período pré-parto, abortos e inércia uterina (Seguin *et al*, 2002; Hillman & Gilbert, 2008; Parkinson, 2009a).

4.2.2 Infecções uterinas (Metrite, Endometrite)

As infecções uterinas são uma das causas mais frequentes de infertilidade em gado bovino. Durante o parto ou imediatamente após, o útero experimenta contaminação bacteriana por microrganismos tais como *Arcanobacterium pyogenes*, *Fusobacterium necrophorum*, *Clostridium species* e *Escherichia coli*, os quais, consoante o grau de contaminação, os mecanismos de defesa uterinos e a presença de substrato para o desenvolvimento bacteriano, podem estabelecer uma infecção persistente (Parkinson, 2009a).

4.2.2.1 Metrite e Endometrite

Metrite clínica é uma infecção que afecta todas as camadas da parede uterina, apresentando sinais de inflamação como edema, infiltração por leucócitos e degenerescência do miométrio. Sheldon, Lewis, LeBlanc & Gilbert (2006) definem como principais características de metrite, útero com tamanho anormalmente grande e corrimento uterino seroso, vermelho-acastanhado e com cheiro fétido, associado com sinais sistémicos de doença (diminuição na produção de leite, apatia ou outros sinais de toxémia) e febre > 39,5°C.

Sheldon, (2008b) refere que a gravidade da doença pode variar desde uma ligeira infecção até ao risco de morte:

- Grau 1 de metrite clínica: o animal apresenta-se com útero aumentado e corrimento purulento detectável até aos 21 dias após o parto
- Grau 2 de metrite clínica ou metrite puerperal: é caracterizada por corrimento seroso, fétido e castanho-avermelhado, geralmente com sinais de doença sistémica e febre até 21 dias após o parto. A presença de febre, mesmo em situações de infecção bacteriana intensa, nem sempre é constante. É uma condição muito dolorosa para o animal e em situações graves conduz a inapetência ou anorexia, desidratação e diminuição da produção.
- Grau 3 de metrite clínica ou metrite tóxica: os animais revelam sinais adicionais de toxémia tais como, inapetência, extremidades frias, depressão ou colapso.

Esta infecção pode encontrar-se relacionada com inércia uterina, partos gemelares, RP, tracções prolongadas, número de partos, idade, produção leiteira e, especialmente, casos de distócias complicadas, onde as manipulações obstétricas aumentam o risco de entrada de agentes bacterianos no interior do aparelho reprodutivo (Smith & Risco, 2002; Parkinson 2009a).

A endometrite é uma inflamação superficial do endométrio que não se estende para além do estrato esponjoso, apresentando uma evidente inflamação ao exame histológico. Segundo Sheldon (2008b) podemos encontrar dois tipos de endometrite:

- Endometrite clínica: caracteriza-se pela presença de corrimento vulvar purulento (>50% de pus), com diâmetro cervical > 7,5 cm, detectados até aos 21 dias pós-parto ou, depois dos 26 dias pós-parto, pela presença de um corrimento muco-purulento (50% pus e 50% muco) não acompanhado por sinais sistémicos.
- Endometrite subclínica: é uma inflamação do útero que resulta numa redução significativa do desempenho reprodutivo sem que evidencie qualquer sinal clínico de endometrite. Na citologia uterina entre os dias 20 a 33 pós-parto, apresenta > 18% de neutrófilos ou > 10% entre os dias 34 e 47 pós-parto. Através da ultrassonografia é possível visualizar um fluido ecogénico no lúmen uterino após 21 dias pós-parto.

A presença de corrimento vulvar, a lóquia, por norma termina perto da segunda ou terceira semana após o parto, no entanto, em casos de endometrite esta persiste para além deste momento (Mateus *et al*, 2002a). A presença de fluido intra-uterino após a terceira semana de lactação pode, portanto, ser um método de diagnóstico na detecção de endometrite (Mateus *et al*, 2002a).

As principais causas de endometrite são RP, partos distócicos e, á semelhança da metrite puerperal, condição corporal demasiado elevada ao parto, principalmente quando ligada ao síndrome do fígado gordo e cetose (Parkinson, 2009a).

Alguns dos métodos utilizados na prevenção de infecções uterinas dedicam uma atenção especial aos cuidados sanitários na altura do parto (Seguin *et al*, 2002) e a uma alimentação apropriada durante o período de secagem, o que contribuirá para que o animal, no dia do parto, tenha uma condição corporal adequada de 3,25 a 3,5 (Lewis 1997 e Risco, Youngquist & Shore, 2007).

4.2.3 Cetose

A cetose, doença de ocorrência típica do período após o parto, caracteriza-se por uma acumulação excessiva de corpos cetónicos em situações em que os níveis de glucose disponíveis se encontram limitados (Van Saun, 2007).

4.2.4 Deslocamento do abomaso (DA)

O deslocamento do abomaso, caracteriza-se por uma persistente acumulação de gás no interior do abomaso que permite que este oscile na cavidade abdominal. O deslocamento do abomaso tanto pode ocorrer para o lado esquerdo (DAE) como para o lado direito (DAD), no entanto, é mais frequentemente ocorrer para o lado esquerdo.

No que respeita ao desenvolvimento de DAE, vários autores têm identificado diversas causas para o seu desenvolvimento: segundo Melendez e Risco (2005), citando Trent (1990), Nocek (1983) e Markusfeld (1986), dietas ricas em concentrado ou dietas com elevadas quantidades de silagem de milho ou baixo conteúdo de fibra detergente neutro (FDN), são factores responsáveis pela produção de grande volume de gás e por afectar a motilidade abomasal. Fubini e Divers (2008) acrescentam que dietas com baixo conteúdo de fibra e com partículas de dimensões reduzidas, aliadas a algumas doenças metabólicas e infecciosas, tais como hipocalcémia, cetose, retenção placentária, metrite e mastite conduzem à estase abomasal, uma vez que as funções secretórias e contrácteis do abomaso se encontram inibidas na presença de doenças que desenvolvem febre ou reacções de inflamação (Murray & Smith, 2002).

4.2.5 Outras

4.2.5.1 Hipocalcémia, Febre do leite

A hipocalcémia ou febre do leite, caracterizada por uma diminuição dos níveis séricos de cálcio é, na maior parte dos casos, consequência de uma rápida depleção de cálcio ionizado e da sua mobilização para a formação do colostro, maturação fetal e produção de leite. Por norma, tem início nas primeiras 72 horas após o parto e é detectada com maior frequência em vacas de alta produção. Considera-se que uma vaca está em hipocalcémia clínica quando os seus níveis séricos de cálcio se encontram abaixo de 7,5 mg/dL (Smith & Risco, 2005).

O decréscimo de cálcio sérico obriga à mobilização deste mineral dos ossos e ao aumento da eficiência de absorção ao nível do tracto gastrointestinal, acção que se deve à vitamina 1,25-Dihidroxi D₃ sintetizada no rim através da estimulação da paratormona (PTH). Deste modo, sempre que os valores de cálcio se encontrem abaixo dos níveis basais, a produção de PTH aumenta, o que conduz à reabsorção osteoclástica do osso, à reabsorção do cálcio nos túbulos renais e ao aumento da absorção intestinal (Peek & Divers, 2008).

Contudo, nem todas as vacas desenvolvem esta patologia. Embora não exista uma explicação clara para este facto, sabe-se que, para além do parto, existem outros factores que podem favorecer o aparecimento de hipocalcémia, tais como a idade, a raça, factores endócrinos, condição corporal, clima, produção de leite ou o pH sérico (Peek & Divers, 2008).

É segundo esta perspectiva que, Smith e Risco (2005) reforçam a ideia de que o pH sérico juntamente com a alta mobilização do cálcio no período pós-parto, é um dos mais importantes factores no desenvolvimento de hipocalcémia. A alcalose metabólica, muitas vezes associada aos níveis elevados de potássio presentes nas rações do período pré-parto, afectam negativamente a acção da PTH sobre os ossos e o rim alterando a interacção desta com os seus receptores e impossibilitando a reposição da homeostase.

4.2.5.2 Mastite

A mastite caracteriza-se por dor, tumefação ou inflamação da glândula mamária (Fangman & Shannon, 2007). Nos bovinos leiteiros, as mastites são quase sempre causadas por microrganismos, geralmente bactérias, que invadem o úbere, multiplicando-se na glândula mamária e sintetizando toxinas que são a causa imediata das lesões.

As vacas recém-paridas têm maior dificuldade em responder de forma eficiente contra uma invasão por bactérias coliformes, microrganismo que contamina o ambiente (Blowey, 1999). Após o parto, o animal experimenta um período de BEN, alterações hormonais e mudanças no tecido mamário devido ao início da lactação (Grabowski, Hamann & Klein, 2008) e por isso, a susceptibilidade a infecções por coliformes encontra-se aumentada (Lévesque, 2004).

4.2.6 Inter-relação entre doenças e efeito sobre a fertilidade

As DAP estão inter-relacionadas através dos respectivos mecanismos fisiopatológicos, os quais se iniciam no quadro metabólico da fase de transição da vaca leiteira. É frequente o desenvolvimento simultâneo ou sucessivo de várias DAP o que agrava o quadro clínico e diminui o prognóstico de recuperação da saúde e da fertilidade. Num estudo elaborado na Florida por Gulay, Liboni, Hayen & Head, (2007), detectou-se que a prevalência de DAP foi de 41,4% num total de 437 animais.

Kimura, Goff, Kehrli e Reinhardt, (2002) evidenciam que vacas que experimentam RP apresentam neutrófilos com uma função reduzida, comparativamente com aquelas que não apresentam RP. Este facto, juntamente com o estado de imunossupressão, para além de aumentar o risco de RP, predispõe o animal a infecções secundárias, tais como metrites e mastites. Refira-se que esta imunossupressão pode ter origem numa deficiência alimentar em vitamina E e selénio, numa condição corporal (CC) elevada e num balanço energético negativo (Hillman & Gilbert, 2008; Parkinson, 2009a), o que, de acordo com Kyung Han e Kim, (2005), aumenta a probabilidade de animais com RP desenvolverem DA, cetose e hipocalcémia.

Animais com cetose, por norma, apresentam problemas do foro imune, pois possuem leucócitos com baixa capacidade fagocitária, baixa produção de citocinas e diminuição da capacidade quimiotática. Estes animais desenvolvem com maior facilidade metrites, mastites e deslocamentos de abomaso (Melendez & Risco, 2005).

Vacas que desenvolvam febre do leite têm um aumento do cortisol plasmático e, segundo Goff e Horst (1997), estas grandes concentrações podem conduzir a um exacerbar do estado de imunossupressão que está inerente ao período pós-parto, podendo ainda conduzir a uma diminuição do tônus uterino e do esfíncter do teto, o que agrava as hipóteses da ocorrência de RP, metrite e mastite. Do mesmo modo, nos animais com hipocalcémia, a secreção de insulina encontra-se alterada, o que promove um aumento de mobilização de lípidos que aumenta o risco de cetose. Esta, juntamente com a diminuição da ingestão, conduz a uma redução da contractilidade do abomaso, que por sua vez pode predispor a deslocamento do abomaso (Goff & Horst, 1997).

As infecções uterinas, devido à sintomatologia causada nos animais, sobretudo a inapetência e a anorexia, diminuem os níveis de ingestão de alimento conduzindo a deficiências nutricionais tais como hipocalcémia e aumento do BEN com possível desenvolvimento de cetose (Sheldon, 2004a). Também o risco de DA aumenta como consequência de uma possível atonia gástrica (Hillman & Gilbert, 2008) bem como a ocorrência de mastites e outras infecções (Hillman & Gilbert, 2008; Parkinson, 2009a).

Num estudo realizado por Cameron *et al* (1998), é destacada a importância da alimentação no período pré-parto e a sua relação com a ocorrência de DA. Assim, vacas com uma CC elevada, têm tendência a ingerir menores quantidades de alimento, o que resulta num maior BEN no início da lactação e numa maior concentração plasmática de ácidos gordos não esterificados (AGNE), conduzindo a problemas de lipídose hepática e cetose que, por sua vez, têm uma forte associação com o DA. Vacas que apresentem DA, juntamente com lipídose hepática, exibem um certo grau de resistência à insulina, que é causa responsável por reduzir o rácio de esvaziamento abomasal. Quanto aos problemas de cetose, sabe-se que reduzem a ingestão de matéria seca e a motilidade ruminal conduzindo à estase abomasal.

Relativamente à performance reprodutiva das vacas que sofreram pelo menos uma destas afecções, é possível constatar um notório impacto negativo sobre a fertilidade. De uma forma geral os animais desenvolvem um aumento do número de dias entre o parto e a primeira ovulação e entre o parto e o primeiro serviço e aumentam também o número de serviços por concepção (Butler & Smith, 1989; Bruun, Ersbøll, & Alban, 2002; Smith & Risco, 2005; Youngquist & Shore 2007; Parkinson, 2009a)

4.3 Controlo do Periparto

4.3.1 Programas profiláticos e seus componentes

Um rápido diagnóstico nos animais com DAP permite que o processo de tratamento e recuperação seja feito de forma precoce, garantindo a possibilidade de melhorar o seu estado de saúde e produção, aumentando as hipóteses de atingir uma maior taxa de sobrevivência bem como a recuperação fertilidade (Smith & Risco, 2005).

Programas de monitorização que avaliem a temperatura rectal, os corpos cetónicos, a presença de mastite, metrite e DA providenciam uma estratégia eficiente na detecção e tratamento precoce de DAP (Benzaquen *et al*, 2004 citado por Melendez & Risco, 2005).

4.3.1.1 Sinais de doença

Para a identificação de sinais de doença podem ser utilizados parâmetros como a produção leiteira e o comportamento/atitude geral.

Actualmente as explorações de leite encontram-se equipadas com um sistema informático capaz de registar e armazenar os níveis de leite diários produzidos por cada animal. Todas as vacas leiteiras, que passam por uma fase de produção de leite normal, ou seja, sem doença, apresentam uma subida diária da produção de leite. Por isso, em situações em que ocorre uma descida de produção, esta é facilmente observada nos registos do computador. Por norma, qualquer desvio do estado normal de saúde resulta numa menor produção de leite. Assim sendo, os níveis de produção são um bom indicador do estado de saúde que a vaca apresenta (Smith & Risco, 2005).

A avaliação do comportamento animal é uma medida que apresenta algum grau de subjectividade. Alguns sinais de doença, tais como o isolamento ou depressão nem sempre são fáceis de perceber. A sensibilidade para avaliar este parâmetro varia com a experiência e com um forte sentido de consciência daquilo que representa um estado normal ou patológico de um animal. No entanto, alguns sinais podem ser observados com alguma objectividade, tais como o grau de desidratação, através da aparência dos olhos e da sua posição no globo ocular, e a posição das orelhas, se estão erectas ou caídas (Smith & Risco, 2005).

4.3.1.2 Condição Corporal

As vacas leiteiras são alvo de profundas alterações fisiológicas durante o período de transição. A ingestão de alimento decresce no momento em que as necessidades energéticas aumentam, por isso, é de extrema importância o controlo nutricional das rações fornecidas. Ao dispor dos animais, devem estar dietas com as quantidades de energia necessárias ao equilíbrio do

balanço energético para que não ocorra uma perda acentuada da condição corporal (Melendez & Risco, 2005).

Animais que apresentem uma CC ao parto demasiado alta podem apresentar uma capacidade limitada de ingestão no pós-parto, predispondo o animal a uma maior perda da CC. No caso da CC ser demasiado baixa a vaca entra em trabalho de parto com “deficit” nutricional, havendo um agravamento deste parâmetro no pós-parto (Wathes *et al*, 2007). Esta alteração da CC verificada no pós-parto é responsável por promover o aumento da concentração endógena dos AGNE e uma diminuição abrupta nas concentrações de glucose (Koller *et al*, 2003).

Animais que apresentam uma CC elevada ao parto, têm maior risco de desenvolver cetose, levando a uma maior perda da CC. A perda acentuada de CC está relacionada com um mau desempenho reprodutivo (Gillund, Reksen, Gröhn, & Karlbergt, 2001)

Wattiaux (2005) recomenda que a avaliação da CC seja feita nas seguintes fases: no período seco, no parto, no início da reprodução e numa fase avançada da lactação. A pontuação dos animais deve ser no período seco de 3,0 a 3,5, ao parto de 3,5 em vacas adultas e 3,0 a 3,25 em novilhas, no início da reprodução 2,5 e na fase final da lactação 3,0 a 3,5. Estes valores da CC, garantem à vaca leiteira reservas corporais suficientes para minimizar o risco de complicações no parto e maximizar a produção leiteira no início da lactação (Wattiaux, 2005). Segundo, Wathes e seus colaboradores (2007), vacas que apresentem uma $CC \geq 3$ na primeira semana após o parto, em média necessitam de mais 3 semanas para obter sucesso na concepção, comparativamente com animais com CC entre 2,0 e 2,9. Em situações em que ocorre uma grande perda da CC pós-parto ocorre um maior intervalo até à primeira ovulação (Beam & Butler, 1999).

A nutrição, nomeadamente, dietas com altos níveis energéticos, é também um dos factores preponderantes na probabilidade de desenvolvimento de DAE (Shaver, 1997).

4.3.1.3 Temperatura rectal

A importância da medição da temperatura rectal prende-se com o facto de que a presença de pirécia (febre) é um sinal clínico típico existente na maioria dos animais com processos infecciosos durante o pós-parto. Como tal, a constante monitorização da temperatura durante a fase inicial do periparto tem provado ser uma ferramenta essencial no despiste de algumas DAP (Smith & Risco, 2005).

Num estudo realizado por Kristula e Smith (2001), citado por Melendez e Risco (2005), consta que o registo da temperatura deve efectuar-se durante os primeiros sete dias pós-parto, por ser o período de maior incidência de doenças infecciosas. Neste mesmo estudo, os autores

definem os 39,5°C como o limiar de temperatura aceitável a partir do qual é passível de se identificar doença. Cerca de 45% das vacas após o parto apresentam temperatura acima do aceitável, sendo que mais de metade desses animais desenvolvem infecções uterinas (Sheldon, Rycroft & Zhou, 2004b). No entanto, segundo Benzaquen *et al*, (2007) o estado febril de um animal com infecção uterina não é suficiente para o diagnóstico, sendo necessário identificar outros sinais clínicos associados.

Vários são os locais possíveis para fazer o registo de temperatura, no recto, na orelha, na vagina, no úbere. A maioria dos médicos veterinários (MV) opta pela medição por via rectal pela facilidade e pelo baixo custo exigido pela técnica (Bewley, Einstein, Grott & Schutz, 2008). Contudo, Prendiville, Lowe, Earley, Spahr e Kettlewell (2002) afirmam que a sua precisão encontra-se sujeita à técnica do operador e que a contenção do animal pode causar stress e influenciar o resultado.

4.3.1.4 Score vaginal

A importância da recolha do corrimento uterino, designado por lóquia, deve-se ao facto de fornecer ao MV informação útil do estado em que se encontra o ambiente uterino, podendo a sua avaliação ser utilizada no despiste de infecções uterinas. O corrimento uterino também se encontra associado com o aumento do número de dias abertos (LeBlanc *et al*, 2002), sendo por isso, mais uma razão que justifica a sua recolha.

Num estudo realizado por Dohmen, Lohuis, Huszenicza, Nagy e Gacs (1995), estes autores classificam o corrimento uterino numa escala de um a quatro, sendo 1 – muco com pequenas quantidades de pus ou muco esbranquiçado, 2 – mucopurulento, com cerca de 50% de pus, 3 – purulento, com mais de 50% de pus e 4 – hemorrágico ou com odor fétido.

Uma vez que nem sempre ocorre expulsão do corrimento, a extracção manual ou a observação do interior da vagina através de vaginoscopia apresentam-se como alternativas viáveis para exteriorizar a lóquia. Contudo, alguns autores consideram que a manipulação do interior do canal vaginal pode aumentar o risco de contaminação bacteriana. No entanto, Sheldon, Noakes, Rycroft e Dobson, (2002) provaram que, se na execução da técnica houver cuidados prévios de higienização, o risco de contaminação é mínimo.

4.3.1.5 Palpação trans-rectal

A realização do exame ginecológico por palpação trans-rectal, método bastante usado no exame reprodutivo pós-parto, tem duas principais funções, a avaliação do estado de involução cervico-uterina e a palpação das estruturas ováricas (LeBlanc *et al*, 2002).

Diversos autores tais como, Drillich, Raab, Wittke e Heuwieser, (2005) e Mejia e Lacau-Mengido, (2005) indicam ainda a importância deste exame no diagnóstico de endometrite. Segundo LeBlanc *et al*, (2002) em termos práticos, a retoma da actividade cíclica pode ser avaliada através da palpação dos corpos lúteos funcionais, o que, implica ser uma técnica com uma sensibilidade e especificidade discutível, visto depender da habilidade técnica do operador.

4.3.1.6 Corpos cetónicos

Concentrações de corpos cetónicos elevadas, capazes de originar cetoses sub-clínicas ou clínicas, são um dos factores mais comuns no desenvolvimento de doenças típicas do parto em vacas de alta produção de leite. São responsáveis por causar perdas de produção, comprometer o desempenho reprodutivo bem como aumentar o risco de DAP (Huseyin & Hasan, 2010).

A forma mais eficiente e expedita de medir os corpos cetónicos é nos fluidos corporais tais como sangue, leite e urina. O teste padrão passa pela medição de β -hidroxibutirato (BHB) no soro/plasma (Duffield, 2000). No entanto, a colheita de sangue e de análise laboratorial apresenta custos e exige pessoal especializado, pelo que não é considerado um bom procedimento de rotina (Huseyin & Hasan, 2010). Também os métodos mais tradicionais que promovem a medição na urina e no leite possuem algumas limitações. Estes testes actuam apenas sobre o acetato e o acetoacetato, que constituem corpos cetónicos com menor estabilidade que o BHB, promovendo apenas uma avaliação semi-quantitativa e pouco precisa da produção de corpos cetónicos no organismo (Geishauser, Leslie, Kelton & Duffield, 1998 citado por Huseyin & Hasan, 2010).

Como alternativa, o MV tem recorrido ao uso de medidores portáteis desenvolvidos para uso humano, como o precision Xceed®, capaz de medir níveis de BHB e glucose. Voyvoda e Erdogan, (2010), avaliaram o desempenho do aparelho comparando-o com a técnica laboratorial padrão e concluíram que constitui uma fonte fidedigna de diagnóstico.

4.3.1.7 pH urinário

A monitorização deste parâmetro tem utilidade na compreensão da resposta do animal às rações aniónicas durante o parto, de modo a prevenir a hipocalcémia. Uma amostra de 10% da população dos animais presentes no parto é suficientemente representativa na determinação do pH (Melendez & Risco, 2005).

Os valores óptimos devem-se encontrar entre 6 a 6,5 nas vacas da raça Holstein, sendo que a recolha deve ser padronizada no tempo, evitando a conspurcação com fezes ou corrimentos vaginais (Melendez & Risco, 2005).

4.3.1.8 Auscultação abdominal

A auscultação abdominal é uma parte essencial do exame clínico de um bovino. Os sons abdominais podem fornecer informações importantes ao diagnóstico clínico tais como a natureza do conteúdo intragástrico e a frequência e a amplitude dos movimentos gastrointestinais (Radostits, Gay, Hinchcliff, & Constable, 2007c)

A auscultação do rúmen deve ser efectuada colocando o estetoscópio no meio da fossa paralombar. Em bovinos de leite, o número normal de contracções é de 1 a 2 por minuto ou 3 em 2 minutos e juntamente com a frequência, o tipo e a força da contracção deve ser tomado em conta. O som do rúmen não é sempre igual variando consoante o tipo de alimento ingerido (Radostits, Gay, Hinchcliff, & Constable, 2007d).

Juntamente com a auscultação, a percussão é também uma prática corrente no exame físico e a utilização das duas, em simultâneo, é muitas vezes usada para a detecção de DAE. O estetoscópio deve ser colocado entre a 9ª e a 13ª costela, e na presença de DAE ouvir-se-á um som metálico “ping”. No entanto, outros casos podem dar origem a um “ping” metálico tais como síndrome do rúmen vazio ou pneumoperitoneu (Radostits *et al*, 2007d).

4.3.2 Análise custo-benefício

Depois dos custos relacionados com a alimentação, a fertilidade é o factor que apresenta maior impacto económico nas explorações leiteiras (Blowey, 1999). No Reino Unido, a infertilidade é um problema crescente, pois a grande maioria das vacas leiteiras são altas produtoras. Neste país, os custos relacionados com a infertilidade e aborto correspondem a cerca de 250 milhões de euros por ano. Na Europa, as perdas económicas associadas a aborto, redução da fertilidade, queda na produção leiteira e na qualidade do leite, estimam-se em 40.000 euros por ano (usando como exemplo uma vacaria de dimensões médias, com 60 vacas em ordenha e 20 novilhas) (Livingstone & Longbottom, 2006).

Os efeitos económicos de um intervalo entre partos (IEP) longo relacionam-se com a redução da produção leiteira anual, com o menor número de vitelos vendidos, com o aumento do período seco, com os custos de mais serviços e custos veterinários e com a possível passagem do parto de um mês mais lucrativo para um período menos lucrativo (Esslemont, Kossaibati & Allock, 2001).

No entanto, o aumento do IEP pode apresentar algumas vantagens, pois as vacas continuam em lactação, pelo que não existe aumento do período seco e não aumentam excessivamente a sua CC até ao próximo parto. Outra das vantagens é a redução de incidência de doença ao longo da vida reprodutiva pois a maioria das doenças em vacas leiteiras encontram-se associadas ao parto e à primeira fase de lactação (Blowey, 1999). Igualmente, o aumento do IEP aumenta o bem-estar animal, sendo também provável o aumento da longevidade e da produção global, assim como da fertilidade. Esta avaliação deve ser realizada para cada exploração. Caso não existam na vacaria problemas de fertilidade e caso a incidência de doenças seja baixa, esta solução não é tão atractiva, e mesmo em explorações problemáticas, deve ser sempre avaliada a possibilidade de serem tomadas outras medidas mais económicas (Blowey, 1999).

Outra questão fundamental é o refugo involuntário dos animais por baixa fertilidade. A taxa anual de refugo não deve ultrapassar os 18% de forma a beneficiar da idade e do potencial genético do animal (Esslemont *et al*, 2001). A decisão de refugar o animal por baixa fertilidade ou mantê-lo depende de vários factores, como a produção do animal, a fase de lactação, a genética, o preço do leite, a probabilidade desse animal ficar gestante e a probabilidade que este tem de vir a contrair doença. Este problema deve ser analisado de forma integrada, na tentativa de compreender quais as medidas economicamente mais viáveis (Esslemont *et al*, 2001).

Em conclusão, a fertilidade deve ser avaliada a longo prazo e de uma forma multifactorial, devendo ser realizada uma análise custo-benefício das medidas passíveis de serem aplicadas. Actualmente, devido à queda nos preços do leite, dos vitelos e das vacas de refugo, o sector leiteiro encontra-se numa situação difícil, tornando-se cada vez mais importante fazer uma boa gestão da fertilidade (Esslemont *et al*, 2001).

4.4 Nutrição e fertilidade

Na óptica de Ferguson, citado por Spain, Lucy & Hardin (2007), os problemas nutricionais associados com a reprodução podem ser categorizados como primários ou secundários. Nos primários incluem-se condições de má nutrição relacionadas com a falta ou com o excesso da ingestão de um nutriente em particular. Já os casos secundários compreendem condições, como por exemplo, doença, em que as restrições causadas resultam de um desequilíbrio nutricional.

No geral, a energia é o nutriente de primeira preocupação no que diz respeito ao suporte da manutenção, lactação e reprodução, embora os desequilíbrios ou insuficiências de proteínas, minerais e vitaminas também sejam reportados como tendo um efeito adverso na função

reprodutiva das vacas leiteiras, assumindo uma importância extrema no período compreendido entre o parto e a concepção (Spain *et al*, 2007).

Sendo o tema do efeito da nutrição muito amplo e diversificado, iremos dar especial interesse apenas aos efeitos referentes aos desequilíbrios proteicos e energéticos, nomeadamente a influência da ureia/amónia e dos corpos cetónicos na fertilidade.

4.4.1 Energia, BEN e corpos cetónicos

4.4.1.1 Metabolismo dos corpos cetónicos

A cetose, doença de ocorrência típica no período após o parto, em vacas leiteiras, caracteriza-se por uma acumulação endógena excessiva de corpos cetónicos perante situações em que os níveis de glucose disponíveis se encontram limitados (Van Saun, 2007). Cerca de 90% dos casos surgem nos primeiros 60 dias de lactação dos quais a maior percentagem decorre no primeiro mês (Carrier, Stewart, Godden, Fetrow & Rapnicki, 2004).

Durante as primeiras semanas de lactação, a vaca experimenta uma reduzida capacidade ruminal e profundas alterações hormonais que conduzem a uma diminuição da ingestão, razão pela qual a energia necessária para a manutenção e para a elevada produção de leite excede a energia obtida através da alimentação, dando origem a um BEN (Baird 1982; Smith & Risco, 2005).

Para uma boa regulação do metabolismo energético, a concentração de glucose no sangue é um factor essencial. A grande parte da glucose necessária aos ruminantes é produzida através da gluconeogénese, a qual tem como precursores principais o propionato e os aminoácidos. O propionato é o precursor mais importante da glucose (Radostits, Gay, Hinchcliff & Constable, 2007b). Portanto, na presença de um défice energético, a falta deste carboidrato resulta numa incapacidade do organismo em garantir a homeostase da glucose, o que, por sua vez, origina uma rápida e excessiva mobilização de lípidos provenientes do tecido adiposo, no sentido de compensar a falta de energia, aumentando assim o nível de AGNE captados pelo fígado (Van Saun, 2007). As concentrações de AGNE e de corpos cetónicos no soro sanguíneo podem ser medidas indirectamente pela magnitude do BEN e pela adaptação da vaca ao BEN (Samarütel *et al*, 2008). Como exemplo, Opsomer e colegas, (2000) indicam a cetose clínica, a qual, se destaca pela diminuição da ingestão de alimento que, por sua vez, agrava o BEN.

No momento em que os AGNE chegam ao fígado, podem sofrer vários destinos - uma parte significativa sofre um processo de esterificação convertendo-se em triglicéridos (lipogénese) que são, posteriormente, ou armazenados nos hepatócitos, ou exportados sob a forma de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL). No entanto, existe um limite de ácidos gordos capazes de sofrer este processo e, quando esse limite é superado, a excessiva

acumulação de triglicéridos inactiva a função dos hepatócitos, encaminhando os AGNE para um processo de oxidação, através do qual se forma acetil-CoA. É o excesso de acetil-CoA, que supera as quantidades necessárias para o ciclo do ácido tricarboxílico (Ciclo de Krebs), que vai dar origem aos corpos cetónicos (Baird 1982; Goff & Horst, 1997; Drackley, 1999).

4.4.1.2 Diferentes tipos de corpos cetónicos e a sua medição.

Como foi referido no ponto anterior, a formação de corpos cetónicos resulta da incapacidade do ciclo de Krebs metabolizar por completo os ácidos gordos e a acetil-CoA. Por isso, com vista a eliminar a concentração excessiva de acetil-CoA, o organismo procede a um processo de conversão dando origem ao acetoacetato (ACAC) que, por sua vez, pode sofrer dois destinos diferentes ou é reduzido originando β -hidroxibutirato (BHB), ou é descarboxilado em acetona (AC) (Baird 1982).

O diagnóstico *gold standard* é feito através da medição do BHB no soro ou no plasma sanguíneo, pois para além de ser o parâmetro mais predominante em circulação é também o mais estável. As concentrações plasmáticas normais em vacas encontram-se abaixo das 1000 $\mu\text{mol/L}$ ou 10,4 mg/dL. Quando os valores se elevam para concentrações superiores a 1400 $\mu\text{mol/L}$ ou 15mg/dL considera-se que o animal sofre de cetose subclínica e, na presença de concentrações que excedem 2500 $\mu\text{mol/L}$ ou 25-30 mg/dL, diz-se que o animal possui cetose clínica (Radostits *et al*, 2007b). No entanto, devido ao seu custo e à mão-de-obra necessária, este diagnóstico tende a ser apenas utilizado para fins de investigação (Enjalbert, Nicot, Bayourthe & Moncoulon, 2001). Alternativamente, tem sido utilizado para detecção de cetose subclínica, um *Cowside test*, o qual permite a pesquisa de corpos cetónicos no leite e na urina. Contudo, as concentrações de BHB e acetoacetato nestes fluidos são menores que no sangue e o coeficiente de correlação entre o BHB no sangue e no leite e entre o acetoacetato no sangue e na urina, é de 0,66 e 0,62 respectivamente (Enjalbert *et al*, 2001).

4.4.1.3 Classificação dos vários tipos de cetose.

Lean *et al*, (1992) citado por Radostits *et al*, (2007b) propôs uma classificação da doença com base na intensidade e extensão na vacada. Nesta classificação a cetose é dividida nos seguintes tipos:

4.4.1.3.1 Cetose clínica primária ou espontânea

Caracteriza-se por uma síndrome que se desencadeia sozinha, ou seja, o seu começo dá-se sem ser necessário a instalação inicial de uma doença primária. Holtenius e Holtenius (1996)

citado por Vaun Saun, (2007) reparte esta cetose em dois tipos diferentes: tipo I, ou cetose do pico da lactação associada com a alta produção de leite e tipo II, ou cetose do periparto, associada com uma resistência à insulina e dificuldades na utilização de glucose como resultado de uma excessiva alimentação, no período seco.

4.4.1.3.2 Cetose secundária

Este tipo de cetose, surge quando se verifica um aumento do BEN induzido pelo início de uma doença primária, como, por exemplo, o DA, metrite, mastites ou outras doenças comuns no periparto. Representa uma parte significativa dos casos de cetose (Rice, McMurray & Davidson, 1983 citados por Radostits *et al*, 2007b).

4.4.1.3.3 Cetose alimentar

Tem origem na ingestão excessiva de corpos cetônicos ou dos seus precursores. Este tipo de cetose é geralmente subclínica (Radostits *et al*, 2007b).

4.4.1.3.4 Cetose por deficiências alimentares

Ocorre em animais com baixa condição corporal, sujeitos a uma alimentação de fraca qualidade com carências nutricionais, principalmente, de proprionato e de proteína e com uma gluconeogénese limitada às reservas corporais (Andersson & Lyndstrom, 1985 e Tveit, Lingaas, Svendsen & Sjaastad, 1992 citados por Radostits *et al*, 2007b).

4.4.1.3.5 Cetose subclínica

A cetose subclínica, que ocorre em vacas leiteiras, é caracterizada por uma marcada insuficiência de carbo-hidratos associada a uma mobilização de gordura corporal, conduzindo a um nível excessivo de corpos cetônicos em circulação, a qual acontece sem qualquer exibição de sinais clínicos (Baird, 1982).

4.4.1.4 Influência do Balanço Energético Negativo (BEN) na fertilidade

Quando abordamos a problemática da relação entre BEN e a fertilidade, devemos focar-nos em dois temas principais: o atraso no início da ciclicidade no pós-parto e o efeito na qualidade do oócito e do corpo lúteo (Jorritsma, Wensing, Kruip, Vos & Noordhuizen, 2003).

4.4.1.4.1 Atraso no início da ciclicidade

Nas vacas leiteiras, o retorno à ciclicidade ocorre no período em que passam por um BEN, comumente associado com níveis de alta produção de leite (Senatore, Butler & Oltenacu, 1996).

Durante este período, como foi referido anteriormente, a CC baixa leva a um aumento do BEN e consequentemente a um atraso no reinício da actividade ovárica. No entanto, nem todos os artigos publicados são unânimes nesta conclusão. Reist *et al*, (2000) concluem, no seu estudo, que a perda de CC não é significativamente diferente entre as vacas que apresentavam um reinício precoce e tardio da ciclicidade. Já Beam & Butler, (1999), citado no trabalho de Samarütel *et al*, (2008), afirmam que vacas que perdem mais de um ponto de CC durante o primeiro mês de lactação experimentam um intervalo entre o parto e a ovulação, maior que aquelas que perdem um valor inferior a um.

A diminuição do aporte energético e estado metabólico no início da lactação contribuem para uma maior concentração de corpos cetónicos no sangue e no leite e uma maior percentagem de ácidos gordos que sofrem uma oxidação incompleta, antes do início do ciclo éstrico, conduzindo por norma, a um prolongamento do intervalo até à primeira ovulação (Reist *et al*, 2000).

Num dos seus estudos, Opsomer *et al*, (2000), afirmam que vacas que apresentam cetose clínica, juntamente com um teste de prussiato positivo durante o exame clínico, apresentam um risco onze vezes superior de um atraso no início da função ovárica. De igual modo, Opsomer *et al*, (2000) conclui que vacas leiteiras que apresentam uma perda de CC maior nos primeiros dois meses de lactação, desenvolvem um risco significativo de ter um atraso no reinício da actividade ovárica, concluindo ainda que, o maior ou menor BEN, experimentado no início da lactação por uma vaca leiteira, é um dos grandes factores de risco no recomeço da ciclicidade, sendo capaz de reduzir a probabilidade de concepção e o aumentar do número de dias abertos (Butler, 2003 citado por De Feu, Evans, Lonergan & Butler, 2009).

Na óptica de Jorritsma *et al*, (2003), podemos relacionar o BEN com o atraso na ciclicidade recorrendo a três temas chave: regulação das gonadotrofinas, a acção da insulina e da IGF-I na função ovárica e as hormonas tiróides:

- As gonadotrofinas desempenham um papel fundamental no eixo endócrino reprodutivo (Noakes, 2009a). Em situações de subnormal aporte de glucose, o hipotálamo sofre uma disfunção e o controlo da secreção de gonadotrofinas pela hipófise fica comprometido (Jorritsma *et al*, 2003).
- Segundo Noakes (2009a), o factor de crescimento da insulina (IGF) é um dos responsáveis pelo crescimento e maturação do folículo, bem como da emergência do folículo dominante

através do aumento da sensibilidade da granulosa aos efeitos da hormona folículo-estimulante (FSH), ou na óptica de Spain *et al*, (2007), amplificando a acção do mecanismo de sinalização para a hormona luteinizante (LH). Vacas que apresentem BEN significativo e que acumulem triglicéridos no fígado em excesso são frequentemente indicadas como tendo concentrações baixas de insulina (Van den Top *et al*, 1995). O efeito positivo do aumento da concentração da hormona de crescimento (GH) na produção de IGF-1 encontra-se provavelmente diminuído ou inibido durante o BEN, o que resulta numa diminuição na produção de IGF-1 (McGuire, Bauman, Dwyer & Cohick., 1995). Na presença de concentrações baixas de IGF-I ocorre um desenvolvimento anormal do folículo, comprometendo a sua qualidade e o momento da ovulação (Spain *et al*, 2007).

- Pensa-se que as hormonas da tiróide têm influência no começo da actividade ovárica. Numa citação retirada de Jorritsma *et al*, (2003), este diz que: “Aparentemente, a T₃ e a T₄ fazem parte do complexo mecanismo hormonal que regula a síntese de esteroides ováricos”.

4.4.1.4.2 Efeito na qualidade do oócito e do corpo lúteo

As alterações que ocorrem durante o crescimento folicular numa vaca sujeita a BEN podem influenciar indirectamente a qualidade do oócito e a actividade do corpo lúteo. As alterações endócrinas e bioquímicas que se encontram associadas a este período reflectem-se no micro-ambiente uterino e no crescimento e maturação do gâmeta feminino, podendo levar à ovulação de um oócito imaturo. Mesmo na presença de uma ovulação e fertilização bem sucedida, o sucesso da gravidez não está garantido (Leroy, Opsomer, Van Soom, Goovaerts & Bols, 2008a).

Britt (1994) citado por Lucy (2001) afirmou que o desenvolvimento do oócito depende do período do crescimento folicular que precede à ovulação. Assim, qualquer afecção ou alteração metabólica pode afectar negativamente o oócito durante a fase em que o seu desenvolvimento ocorre dentro do folículo. Mais tarde, Gwazdauskas, Kendrick, Pryor e Bailey (2000) concluíram que a fase da lactação em que o animal se encontra, bem como a dieta energética exercem uma grande influência na qualidade do oócito. Deste modo, regimes alimentares incapazes de fornecer as fontes energéticas necessárias conduzem a uma diminuição da CC, o que, no estudo *in vitro* efectuado por Snijders, Dillon, Callaghan e Boland, (1999), indica uma diminuição da taxa de clivagem e de desenvolvimento do oócito. Leroy, Vanholder, Opsomer, Van Soom e Kruif (2006) sugerem que tanto a cetose clínica como a subclínica afectam o desenvolvimento do oócito na fase de maturação através dos efeitos adversos exercidos pela baixa concentração de glucose.

Senatore e colaboradores (1996) confirmaram que a magnitude do BEN na fase inicial da lactação exerce efeitos adversos sob a função lútea. A presença de um corpo lúteo pouco funcional encontra-se associada à redução na produção de progesterona e, provavelmente, a uma diminuição na concentração do IGF-1. Também num artigo de revisão, Jorritsma e colegas (2003), citam Yung, VandeHaar, Forwell e Sharma (1996), e concluem que o aumento da concentração de AGNE é responsável pela diminuição da concentração de progesterona no sangue e no leite e pela diminuição do peso e do tamanho do corpo lúteo. Aceita-se que a causa que induz o mau funcionamento lúteo actue indirectamente/directamente no micro-ambiente uterino fazendo com que este não adquira as condições óptimas para o desenvolvimento do embrião, dificultando a sua sobrevivência. (Leroy *et al*, 2008a).

4.4.2 Proteína e urémia

4.4.2.1 Monitorização do metabolismo da ureia

Hoje em dia, o alimento fornecido para vacas grandes produtoras de leite possui alto teor de proteína. A presença destas macro-moléculas tem uma importância extrema no período pós-parto, pois a sua utilização é crucial para fazer face às necessidades metabólicas a que o animal está sujeito, nomeadamente, no início da lactação onde a proteína surge com um papel fundamental no que diz respeito à produção de leite. Durante o puerpério, as vacas leiteiras mobilizam grandes quantidades de reservas corporais. Desta feita, uma porção de proteína armazenada no organismo será também mobilizada, o que poderá dar origem a concentrações elevadas de ureia plasmática. Em conjunção, o aumento dos triglicéridos no fígado podem resultar no aumento da concentração de amónia (Jorritsma *et al*, 2003).

A fonte proteica dietética, ou proteína bruta (PB), pode ser dividida em duas porções, proteína degradada no rúmen (PDR) e proteína não degradada pelo rúmen (PDNR). Quando o alimento atinge o rúmen, a PDNR não é absorvida, sendo os aminoácidos posteriormente assimilados a nível intestinal, distribuindo-se pelos órgãos e tecidos (Tamminga, 2006). No entanto, parte da proteína que se degrada pelo processo fermentativo (PDR) converte-se em amónia e, quando em níveis aceitáveis, é usada na síntese microbiana. Quando os níveis de PDR na dieta são demasiado altos, o excesso de amónia produzido difunde-se através do rúmen, entra na circulação portal e é encaminhada para o fígado onde é incorporada no ciclo da ureia dando origem à formação de ureia (Butler, 1998). Contudo, é importante ter em consideração que a utilização da proteína por parte do organismo requer mobilização de energia, por isso o BEN afecta o teor de proteína degradado e os níveis endógenos de amónia e ureia e, por sua vez, é afectado (agravado) pela síntese de ureia.

4.4.2.2 Influência da ureia na fertilidade

Esta relação tem conclusões contraditórias. Alguns estudos mostram que o excesso de proteína bruta na ração reduz a fertilidade (Canfield, Sniffen, & Butler, 1990; Elrod & Butler, 1993), outros mostram que apenas afecta em algumas circunstâncias, como por exemplo, em casos de doença no periparto (Barton, Rosario, Anderson, Grindle, & Carroll, 1996) e outros, ainda, referem que não exerce qualquer tipo de efeito (Carroll, Barton, Anderson & Smith, 1988).

A ureia, produto final do catabolismo proteico, é uma molécula solúvel em água capaz de se difundir por todas as células e tecidos do organismo, sendo a sua concentração facilmente medida através do nitrogénio nela contido (Gustafsson & Palmquist, 1993). Podemos mensurar a ureia na circulação sanguínea tanto através do plasma, como do soro sanguíneo ou então no leite. Os níveis de ureia no plasma ou no soro são o reflexo da quantidade e da degradabilidade da proteína consumida, da severidade do BEN ou então da combinação dos dois (Elrod & Butler, 1993).

Como foi referido atrás, sabe-se hoje que a proteína é essencial para que se atinjam altos níveis de produção de leite, no entanto, os aumentos de proteína registados na dieta encontram-se também muitas vezes associados com uma diminuição dos parâmetros reprodutivos (Laven & Drew, 1999). A ureia e a amónia são encaradas como produtos tóxicos capazes de interferir negativamente em uma ou mais fases do processo reprodutivo. Na óptica de Canfield *et al* (1990), existem três teorias generalistas que explicam o facto de dietas com elevado teor proteico suprimirem a fertilidade: as alterações nas secreções de progesterona, os efeitos da proteína sobre o ambiente uterino e a relação da proteína com a energia disponível.

4.4.2.2.1 Alteração na secreção de progesterona.

A progesterona é uma das principais hormonas no controlo do ciclo éstrico desempenhando um papel crucial através da modulação da secreção de LH e da PGF_{2α}.

No momento em que a concentração de progesterona em circulação baixa, em virtude da regressão do corpo lúteo, ocorre a libertação de um pico de LH pela pituitária que por sua vez irá promover a ovulação do folículo maduro (Noakes, 2009a).

Um dos mecanismos propostos para justificar a perda de fertilidade associada ao excesso de PB supõe que elevadas concentrações de ureia e amónia pode comprometer os receptores ovários de LH conduzindo a uma redução na taxa de ovulação e a um decréscimo na concentração de progesterona (Jordan, Chapman, Holtan & Swanson, 1983).

Vacas leiteiras alimentadas através de dietas com elevadas concentrações de PDR durante o início da lactação, desenvolvem um maior BEN devido ao acréscimo de energia necessária para destoxificar a amónia que entra na corrente sanguínea em ureia. O agravar do BEN pode interferir com a regulação fisiológica da progesterona conduzindo a níveis plasmáticos abaixo do normal (Butler, 2000). Por isso, pode-se considerar as alterações das concentrações fisiológicas da progesterona como um dos responsáveis por reduzir a fertilidade nestes animais, promovendo o aumento do intervalo de dias entre o parto e a primeira ovulação (Butler, 1998).

4.4.2.2.2 Ligação entre o metabolismo proteico e o ambiente uterino.

O sucesso do desenvolvimento embrionário no início da gravidez depende muito do ambiente encontrado pelo embrião no lúmen uterino. O útero é um órgão dinâmico que exhibe marcadas diferenças consoante a fase reprodutiva em que se encontra. Isto é, a natureza cíclica do micro-ambiente do lúmen uterino é o espelho da regulação da função ovárica e das secreções endometriais (Butler, 1998). Desta forma Elrod e Butler (1993) defendem que o excesso de proteína na dieta diminui a fertilidade e altera significativamente a composição iónica do fluido uterino durante a fase lútea, mas não na fase folicular.

O pH uterino sofre uma grande influência dos níveis séricos de ureia. Durante a fase de estro, em condições normais, o pH tende a subir de 6,8 para cerca de 7 a 7,1, mas em situações em que se verifica uma elevada concentração de ureia no plasma este aumento tende a falhar. Deduz-se assim, que a ureia plasmática faz diminuir o pH uterino (Elrod & Butler, 1993).

O gradiente do pH uterino é sensível aos níveis de estradiol e progesterona. Como resultado, alimentações com elevadas concentrações de proteína bruta, conduzem a um aumento da concentração de ureia plasmática, o que pode interferir com a actividade normal da progesterona no micro-ambiente uterino, podendo dar origem a condições sub-óptimas ao desenvolvimento embrionário (Butler, 2000). As células endometriais são responsáveis pela produção de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e de PGE_2 . Quando a vaca se encontra sujeita a níveis de ureia elevados, ou seja concentrações acima de 19 a 20 mg/dL, a acção da progesterona na manutenção do pH é alterada, aumentando a secreção das prostaglandinas, o que por sua vez, para além de interferir com a função lútea (Butler, 1998), exerce um efeito tóxico sobre o espermatozóide e o óvulo (Jordan & Swanson 1979; Jordan *et al*, 1983).

4.4.2.3 Influência da proteína na fertilidade

4.4.2.3.1 No retorno ao ciclo

No seu estudo, Carroll *et al*, (1988) concluem que apenas vacas na primeira lactação ou com saúde muito debilitada ou vacas muito velhas sofrem um efeito negativo no retorno à ciclicidade (17 ± 2 vs 22 ± 2 dias, $P < 0.06$).

Esta ideia também é suportada por Butler (1998) onde afirma que a alimentação através de dietas ricas em proteína aparentemente não tem uma forte influência no reinício da actividade ovárica no puerpério.

No entanto, Tamminga (2006) conclui o contrário num dos seus estudos, afirmando que os elevados níveis de PDR na dieta são responsáveis por promover um atraso na primeira ovulação.

4.4.2.3.2 Na taxa de concepção ou na taxa de gravidez

Pelo facto do metabolismo excessivo de PDR e PNDR se encontrar relacionado com a elevada produção de ureia, a monitorização da concentração da ureia sanguínea no leite tem provado ser uma mais valia na identificação de casos em que os valores se encontram acima de 19 ou 20 mg/dL, os quais se relacionam com a diminuição da taxa de gestação (Butler, 1998).

A amónia e a ureia têm influência negativa na fertilidade, mas em fases diferentes do período reprodutivo. Tanto uma como a outra, promovem dificuldades acrescidas na clivagem e na formação do blastocisto, no entanto, a exposição a elevados níveis de amónia interfere com os oócitos no estadio de folículos antrais, ou seja, durante a fase que antecede a ovulação (Sinclair, Kuran, Gebbie, Webb & McEvoy, 2000). Já no que diz respeito à ureia, parece ter um efeito negativo mais relevante durante o processo de fertilização (De Wit, Cesar & Kruip, 2001).

Num estudo realizado por Canfield *et al*, (1990) a taxa de concepção ao primeiro serviço foi significativamente mais baixa nas vacas alimentadas com dietas com elevados níveis de proteína em relação a vacas alimentadas com dietas standard (31% vs 48%, $P < 0.05$). Também Elrod e Butler (1993) encontraram evidências de uma diminuição na taxa de concepção ao primeiro serviço quando compararam um efectivo de 80 vacas Holstein alimentado com 15,5% e com 21,8% de proteína bruta (82% vs 61% respectivamente, $P < 0.05$).

McCormick *et al*, (1999) mostra no seu estudo diferenças na taxa de gravidez entre animais alimentados com 13-17% de proteína bruta para os que foram alimentados com 19-21% de PB, sendo os valores encontrados cerca de 75% vs 53% respectivamente $P < 0.05$.

Em conformidade com os autores já referidos, Tamminga (2006) afirma haver uma diminuição na taxa de concepção depois da primeira inseminação em situações de excesso de proteína na dieta.

4.4.2.3.3 Dias em aberto

Para outros autores, no entanto, a quantidade de proteína bruta ingerida ou a estratégia alimentar não influencia, de forma significativa, o número de dias em aberto (Carrol *et al*, 1988).

Vacas com problemas de saúde alimentadas com dietas com cerca de 20% de proteína bruta desenvolvem um maior intervalo entre o parto e a concepção, quando comparado com vacas alimentadas com 13% PB (71.4 vs 80.7, $P=0.1$) (Barton *et al*, 1996).

Níveis elevados de PDR na alimentação promovem o aumento do número de dias em aberto (Tamminga, 2006).

5. Trabalho Experimental

5.1 Objectivo

O trabalho experimental teve por objectivo avaliar a relação entre a ocorrência das DAP e parâmetros biológicos, metabólicos e reprodutivos em vacas leiteiras de alta produção.

5.2 Desenho experimental

O estudo foi realizado entre os dias 1 de Outubro de 2009 e o dia 31 de Março de 2010. Nele foram incluídas vacas que completaram a gestação. Partos gemelares e nados-mortos não constituíram motivo de exclusão.

O protocolo experimental consistiu na: a) colheita de todos os registos relativos à fêmea desde o parto até ao resultado do diagnóstico de gestação subsequente; b) acções realizadas durante o puerpério (Dias 0-10 pós-parto); c) acções realizadas durante o período de Dia 30-37 pós-parto.

Dia 0 - 10pp

A primeira tarefa consistiu no registo da CC (escala 1-5) do animal ao parto (Dia 0, D0)

Durante este período, procedeu-se à recolha de pelo menos quatro registos de temperatura rectal em dias diferentes. A avaliação do “score” vaginal foi efectuada entre os D4-6 e os D8-10. Foram recolhidas amostra de sangue entre o D8-10 para a mensuração de ureia e corpos cetónicos no plasma. Foram retrospectivamente definidos como “animais sem doença”, todos aqueles que não apresentaram qualquer tipo de DAP e “animais com doença”, todos os que revelaram possuir uma ou mais DAP até ao D10pp.

Dia 30 – 37pp

Durante este período, procedeu-se ao registo da CC e a uma recolha de sangue e de leite para mensuração da concentração plasmática/láctea de ureia. Realizou-se um exame ginecológico por palpação trans-rectal e por ultrassonografia para avaliação do “score” uterino; grau de involução uterina e retorno à ciclicidade, tendo sido identificado os animais com endometrite.

5.3 Materiais e Métodos

5.3.1 Explorações de vacas leiteiras

O trabalho experimental de campo foi realizado em 2 explorações de vacas leiteiras. A Exploração José Ribeiro Chula e filho S.A.P. Lda. (Exploração 1) situa-se na Freguesia da Moita, no distrito de Setúbal, sendo uma exploração em regime intensivo que tem como principal objectivo a produção de leite. A sua média de produção ronda 10.200 kg lactação

305 dias, encontrando-se na actualidade com um efectivo de cerca de 750 animais de raça *Frisian-Holstein*, dos quais aproximadamente 380 são submetidos a duas ordenhas diárias.

As vacas apresentam-se distribuídas por parques consoante o seu nível produtivo e o seu escalão etário.

A taxa de refugo anual é de aproximadamente 35%, estando a exploração estabilizada em relação ao número de fêmeas do efectivo.

Apresenta um programa de controlo reprodutivo e registos informatizados. Nesta exploração, o período voluntário de espera é de 60 dias, sendo todas as fêmeas que não apresentam sinais de cio até este estágio, examinadas para eventual tratamento indutor do cio. A detecção do cio é por observação visual.

É realizada a IA e apenas as vacas repetidoras são submetidas a monta natural com um touro na exploração. O diagnóstico de gestação é realizado cerca de 40 dias após a IA/monta.

A alimentação é fornecida em sistema de “*unifed*”, com formulação apropriada para satisfazer as necessidades de cada parque produtivo/etário.

A exploração Agro-Pecuária Afonso Paisana, S. A (Exploração 2) está localizada na freguesia da Fajarda, concelho de Coruche, distrito de Santarém, apresentando um regime de produção intensiva, em que a principal actividade é a produção de leite. Atinge a produção média de 11.000 kg lactação 305 dias e o seu efectivo é constituído por cerca de 500 animais de raça *Frisian-Holstein*, dos quais 240 são submetidos a três ordenhas diárias. As fêmeas são distribuídas por parques, de acordo com a idade e o nível produtivo.

Apresenta um programa de controlo reprodutivo e registos informáticos integrados com a sala de ordenha. A confirmação da detecção de cios é por observação visual após análise diária dos registos provenientes da actividade locomotora fornecida pelos podómetros. É praticada a IA e a monta natural nas vacas repetidoras, utilizando um touro da exploração.

O diagnóstico de gestação é realizado por ecografia cerca dos 30 dias após a ultima IA/monta. O período voluntário de espera é de cerca de 50 dias, sendo as fêmeas sem registo de cio até este momento, examinadas para eventual tratamento indutor de cio.

A alimentação é fornecida em sistema de “*unifed*”, com formulação apropriada para satisfazer as necessidades de cada parque produtivo/etário.

5.3.2 Animais

Foram monitorizados 186 fêmeas com parto registado durante o período referido para o trabalho experimental, das quais 126 na exploração 1 e 60 na exploração 2. A idade média das fêmeas foi de $4 \pm 2,1$ anos (média \pm desvio padrão) e o número médio de lactações foi de $2,5 \pm 1,6$ (média \pm desvio padrão).

5.3.3 Métodos

5.3.3.1 Condição Corporal (CC)

A avaliação foi realizada sempre pelo mesmo operador. A escala utilizada foi descrita por Michel A. Wattiaux da Universidade de Wisconsin-Madison (2005) e apresenta uma classificação de 1 a 5, sendo ao valor 1 atribuído o grau de magreza severa e ao valor 5 o grau de obesidade severa.

Foi posteriormente calculada a diferença entre as CC aos D30pp e D0-10pp.

5.3.3.2 Temperatura rectal

A medição da temperatura rectal foi realizada com recurso a um termómetro digital. Este parâmetro foi classificado como normotermia, quando os valores se encontravam entre 38,4°C e 39,5°C e como temperatura anómala, sempre o valor obtido se encontrava acima ou abaixo do intervalo referido (Chen, 1998).

5.3.3.3 “Score” Vaginal

Para avaliar este parâmetro a higiene da zona perineal e vulvar é essencial. Para tal, o procedimento passa por lavar cuidadosamente a região vulvar e toda a zona circundante com água corrente, secar com toalhete de papel descartáveis e posteriormente desinfetar os lábios da vulva com uma solução de iodopovidona. De seguida, introduz-se a mão na vagina, devidamente protegida com uma luva de palpação limpa, e recolhe-se as secreções localizadas próximo do cérvix (Mortimer, Farin & Stevens, 1997; Williams *et al*, 2005).

A classificação foi realizada com base numa escala entre 0-4 (Dohmen *et al*, 1995), em que o valor 0 está associado a corrimento mucoso, transparente e limpo; o valor 1 a corrimento que apresenta vestígios (grumos) de pús; valor 2 ao corrimento com até 50% de conteúdo purulento; valor 3 ao corrimento com conteúdo purulento superior a 50%; o valor 4 a corrimento seroso e com cheiro fétido (Anexo 2).

5.3.3.4 Colheita processamento e armazenamento das amostras de sangue

Para a colheita de amostras de sangue foram utilizadas seringas monovette da Sarstedt® com cristais de heparina lítio e agulhas de 18G. Cerca de 9 ml de sangue foram colhidos através da punção da veia coccígea. Após a recolha, o sangue foi centrifugado a 3000 rotações por minuto durante 10 minutos, de modo a individualizar o plasma sanguíneo. Por fim, pipetou-se cerca de 2 ml de plasma para dois tubos eppendorfs de forma a obter amostras duplicadas de cada animal, etiquetou-se os tubos e conservou-se a uma temperatura de -20°C.

5.3.3.5 Colheita e armazenamento de amostras de Leite

As amostras de leite foram recolhidas para tubos de plástico com tampa de rosca e conservados a uma temperatura de -20°C. O procedimento consistiu na limpeza do tétó com um toalhete de papel descartável e antes da recolha procedia-se à rejeição dos primeiros jactos de leite. Sempre que possível colectou-se leite de pelo menos dois tétos num volume de aproximadamente 15 ml por vaca.

5.3.3.6 Mensuração de BHB e ureia

Após descongelação de uma das alíquotas de plasma, foi realizada a mensuração das concentrações de BHB e de ureia. Estas foram realizadas em duplicado, sendo o valor utilizado na análise a média dos duplicados. Sempre que a diferença entre duplicados foi superior a 15% (eventual erro de pipetagem) foi repetida a mensuração. Esta foi realizada por espectrofotometria, utilizando um aparelho de espectrofotometria UV/Visível (Pharmacia LKB – Ultrospec III) e kits disponíveis comercialmente (Ranbut (Hydroxybutyrate) RB 1007 para o BHB e Urea (manual only) UR 1068 para a ureia) segundo as instruções do fabricante. Os coeficientes de variação intra-ensaio foram de 5,79% para o BHB e, para a ureia no plasma, de 4,21% ao D8-10pp e de 4,55% ao D30pp.

A mensuração da ureia no leite recorreu ao mesmo método utilizado para as amostras de plasma sanguíneo.

5.3.3.7 Mensuração de BHB sanguíneo por “precision Xceed®”

O “precision Xceed” é um aparelho disponível comercialmente para mensuração, pelo utilizador, das concentrações de glucose e corpos cetónicos no sangue, em humanos.

A leitura realizou-se após colocação directa de uma gota de sangue da veia coccígea na fita descartável para corpos cetónicos do aparelho.

Esta análise foi apenas realizada na exploração 2 e o número de amostras foi de 41 devido a questões monetárias.

O objectivo foi de validar a leitura obtida, por comparação com o valor obtido pelo método laboratorial descrito acima.

5.3.3.8 Exame Ginecológico

Este exame serviu para avaliar, a ciclicidade, o score uterino e a involução cervico-uterina ao D30-37pp, assim como a presença de endometrite clínica.

Este exame recorreu à palpação trans-rectal utilizando as classificações proposta por Studer (1983) e LeBlanc *et al*, (2002) e ao exame ecográfico, utilizando um ecógrafo com sonda

rectal linear de 5-7,5 MHz de frequência (ScanVet 200, Pie-Medial, Maastericht, The Netherlands)

A presença de corpos lúteos funcionais ou em regressão caracterizam a vaca como cíclica e a sua ausência como não cíclica (LeBlanc *et al*, 2002).

A classificação do cérvix e do útero, foi baseada nos respectivos diâmetros (Studer, 1983; LeBlanc *et al*, 2002).

O “score” uterino foi classificado na escala de 0-3 baseado no volume e na ecogenicidade do conteúdo uterino representando o valor 0 ausência de fluido, valor 1 altura do fluido até 3 mm, valor 2 altura do fluido intra-uterino até 7 mm e moderada ecogenicidade e o valor 3 altura do fluido intra-uterino > 7 mm e heteroecogenicidade (Barlund, Carruthers, Waldner e Palmer, 2008).

A presença de endometrite foi identificada através do “score” uterino, “score” vaginal (se corrimento purulento) e diâmetro cervical pontuado numa escala de 0-3 representando o valor 1 um diâmetro <5 cm, o valor 2 um diâmetro entre 5 e 7,5 cm e o valor 3 um diâmetro >7,5 cm, valor a partir do qual se considera a presença de endometrite.

5.4 Análise estatística

Todos os registos foram inseridos numa base de dados que considerou uma folha individual por animal (Anexo 1). Utilizou-se o programa informático Excel® como suporte de construção de gráficos e tabelas, bem como para a obtenção de estatísticas descritivas e construção da base de dados final.

Os dados foram analisados recorrendo ao programa STATISTICA *for Windows*, Statsoft Inc. (Tulsa, OK, USA, 1995). As variáveis categóricas foram analisadas por teste de qui-quadrado (teste exacto de *Fisher*) em tabelas de contingência. No entanto, estas variáveis transformadas em sistema numérico binário/terceário foram também incluídas na análise do modelo geral linear em conjunto com as variáveis contínuas por forma a extrapolar possíveis interações. Após verificação da normalidade da distribuição da população nas variáveis contínuas, foi utilizado a análise de variância múltipla (MANOVA tipo III com abordagem em regressão múltipla). Os efeitos significativos foram subsequentemente re-avaliadas “*post-hoc*” pelo teste das diferenças mínimas significativas (LSD). As conclusões obtidas saíram do modelo estatístico MANOVA ou foram determinadas pelo método de *Pearson*. O nível de significância escolhido foi de 5% ($p < 0,05$) e considerou-se uma tendência estatística se $p < 0,1$.

6. Resultados

Morte/ Refugo involuntário

Dos 186 animais do estudo, 10 morreram antes de D30pp e 19 morreram ou foram refugados após este período. Em virtude da ocorrência de mortalidade/refugo e por à data de conclusão do trabalho nem todos os parâmetros estarem disponíveis para todos os animais, o valor de n varia consoante o parâmetro e o momento do seu registo.

6.1 Relação entre a concentração de ureia no plasma e no leite ao D30pp

De modo a avaliar a relação existente entre a concentração de ureia mensurada no plasma e no leite ao D30pp determinou-se igualmente a correlação de *Pearson* entre os dois parâmetros. A estatística descritiva e os resultados da análise de variância e da correlação estão apresentadas na Tabela 2 e a regressão entre os dois parâmetros está ilustrada no Gráfico 1.

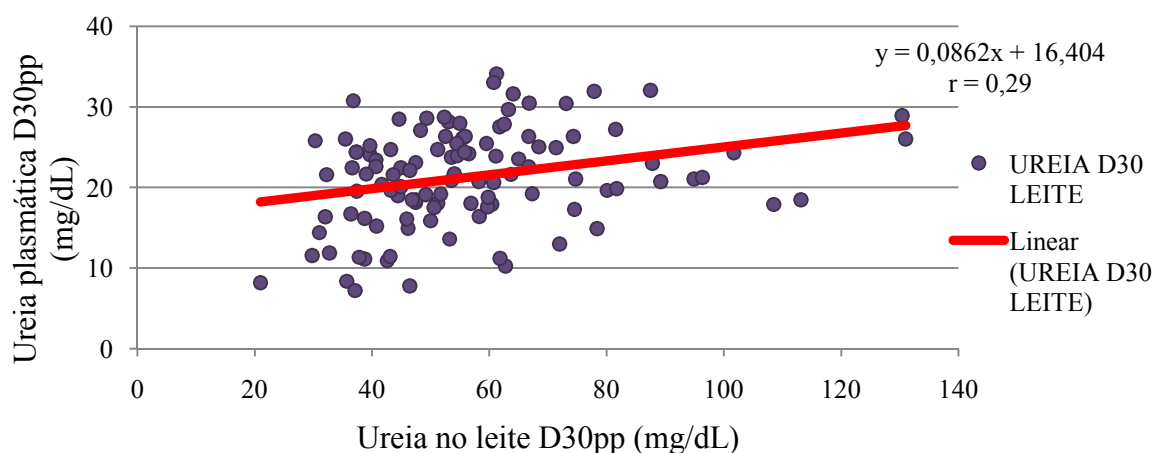
Tabela 2. Relação entre as concentrações de ureia no plasma e no leite ao D30pp

| | n | Média | Erro Padrão | Desvio Padrão | IC95% | r | P (Pearson) |
|-----------------------------------|-----|--------------------|-------------|---------------|-------|------|------------------|
| Ureia plasma (mg/dL) ¹ | 110 | 21,30 ^a | 0,57 | 6,02 | 1,14 | 0,29 | 0,002 |
| Ureia leite (mg/dL) ¹ | 110 | 56,76 ^b | 1,93 | 20,23 | 3,82 | | |

¹Medição feita por espectrofometria

ab, $p \approx 0$ (ANOVA)

Gráfico 1. Regressão entre as concentrações de ureia plasmática e no leite ao D30pp



6.2 Relação entre a concentração de ureia no plasma ao D10pp e D30pp

De modo a avaliar a relação existente entre a concentração de ureia mensurada no plasma ao D10pp e D30pp, determinou-se também a correlação de *Pearson* entre os dois parâmetros. A estatística descritiva e os resultados da análise de variância e da correlação estão apresentadas na Tabela 3 e a regressão entre os dois parâmetros está ilustrada no Gráfico 2.

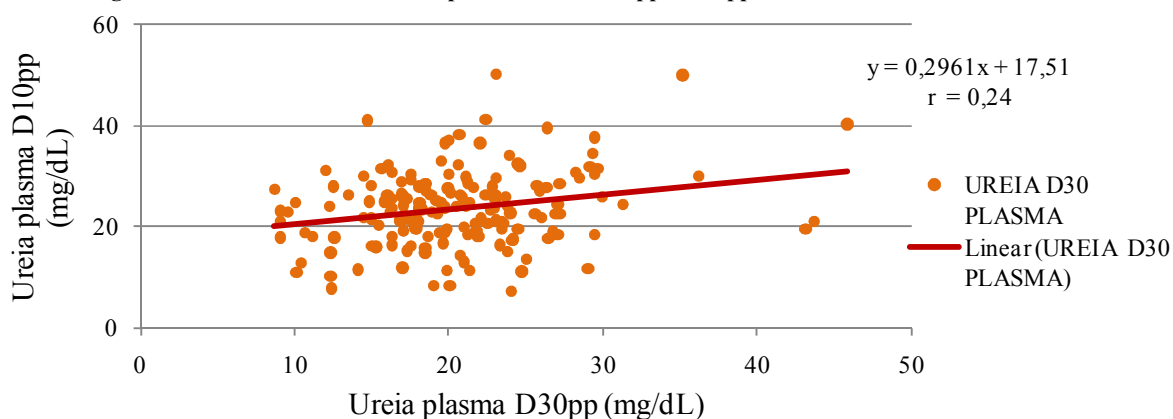
Tabela 3. Relação entre as concentrações de ureia no plasma

| | <i>n</i> | Média | Erro Padrão | Desvio Padrão | IC95% | <i>r</i> | <i>P</i> (Pearson) |
|---|----------|--------------------|-------------|---------------|-------|----------|--------------------|
| Ureia plasma D10pp (mg/dL) ¹ | 121 | 20,47 ^a | 0,46 | 6,03 | 0,90 | 0,24 | 0,001 |
| Ureia plasma D30pp (mg/dL) ¹ | 121 | 23,57 ^b | 0,56 | 7,36 | 1,10 | | |

¹Medição efectuada por espectrofotometria

ab, p = 0,031 (ANOVA)

Gráfico 2. Regressão entre os valores de ureia plasmática ao D10pp e D30pp



6.3 Relação entre as concentrações sanguíneas de BHB determinadas pela técnica laboratorial e pelo “precision Xceed®”

A comparação entre os métodos acima enunciada está apresentada na Tabela 4 e no Gráfico 3.

Tabela 4. Relação da concentração média de β-hidroxibutirato medida ao D8-10pp no plasma e no sangue periférico.

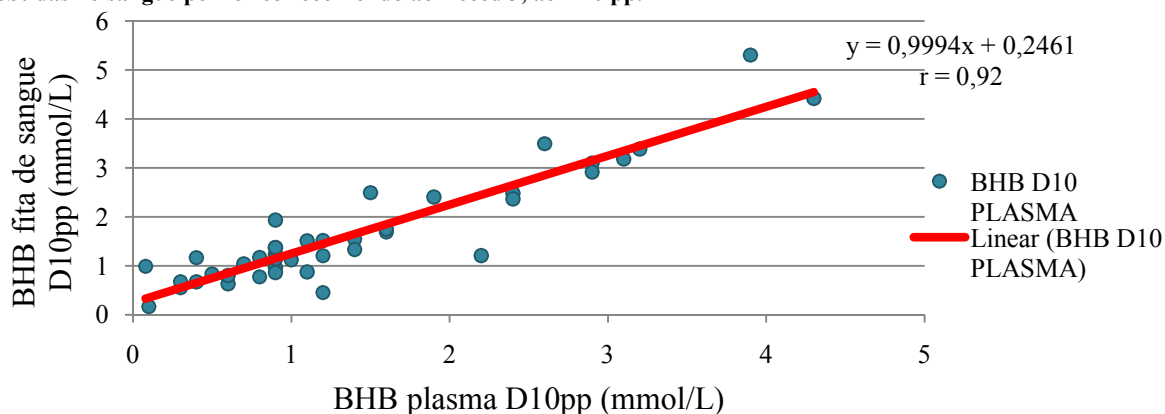
| | <i>n</i> | Média | Erro Padrão | Desvio Padrão | IC95% | <i>r</i> | <i>P</i> (Pearson) |
|--|----------|-------------------|-------------|---------------|-------|----------|--------------------|
| BHB fita de sangue (mmol/L) ¹ | 41 | 1,41 ^a | 0,16 | 1,04 | 0,33 | 0,92 | ≈ 0 |
| BHB plasma (mmol/L) ² | 41 | 1,66 ^a | 0,18 | 1,12 | 0,35 | | |

¹Medição efectuada com recurso ao precision Xceed®

²Medição efectuada por espectrofotometria

a, p = 0,307 (ANOVA)

Gráfico 3. Regressão entre as concentrações de β -hidroxibutirato mensuradas por espectrofotometria no plasma e as obtidas no sangue periférico recorrendo ao Xceed®, ao D10 pp.



6.4 Prevalência das doenças associadas ao parto (DAP)

A prevalência das doenças associadas ao parto nas duas explorações incluídas no estudo está apresentada na Tabela 5.

Tabela 5. Prevalência das DAP identificadas até ao D10pp

| DAP | Exploração 1 | | Exploração 2 | | TOTAL | |
|---------------------------|--------------|-------------|--------------|-------------|-----------|-------------|
| | <i>n</i> | % | <i>n</i> | % | <i>n</i> | % |
| Claudicação | 13 | 10,3 | 1 | 1,7 | 14 | 7,5 |
| Retenção Placentária | 15 | 11,9 | 1 | 1,7 | 16 | 8,6 |
| Metrite Puerperal clínica | 5 | 4,0 | 0 | 0,0 | 5 | 2,7 |
| Mastite | 3 | 2,4 | 3 | 5,0 | 6 | 3,2 |
| Deslocamento do Abomaso | 0 | 0,0 | 8 | 13,3 | 8 | 4,3 |
| Associações | 8 | 6,0 | 1 | 1,7 | 9 | 4,8 |
| Total | 44 | 34,9 | 14 | 23,3 | 58 | 31,2 |

Não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) na prevalência das DAP entre as duas explorações.

6.5 Efeito da exploração nos Parâmetros biológicos, metabólicos e reprodutivos.

O efeito exploração é apresentado na Tabela 6, onde se compara os diversos parâmetros biológicos, metabólicos e reprodutivos entre as duas explorações.

Tabela 6. Comparação dos parâmetros biológicos, metabólicos e reprodutivos entre a Exploração 1 e a Exploração 2

| Parâmetro | Exploração 1 | | Exploração 2 | | <i>P</i> |
|---|--------------|------------|--------------|-----------|---------------|
| | <i>n</i> | valor | <i>n</i> | valor | |
| CC ao parto (1-5) | 126 | 3,9 | 60 | 4,1 | 0,13 |
| CC D30pp (1-5) | 121 | 3,2 | 55 | 3,2 | 0,70 |
| CC diferença parto-D30pp | 121 | 0,7 | 55 | 0,9 | 0,02 |
| Temperatura rectal média até D10pp (°C) | 126 | 39,1 | 60 | 38,9 | 0,0005 |
| Temperatura anómala até D10pp (n (%)) | 126 | 90 (71,4) | 60 | 48 (80) | 0,63 |
| Score vaginal médio D4-6pp (0-4) | 125 | 1,5 | 57 | 2 | 0,027 |
| Score vaginal médio D8-10pp (0-4) | 126 | 2,4 | 60 | 2,5 | 0,67 |
| BHB médio plasma D8-10pp (mmol/L) | 126 | 1,0 | 60 | 1,7 | ≈ 0 |
| Ureia média plasma D8-10pp (mg/dL) | 126 | 20,7 | 60 | 19,9 | 0,44 |
| Ureia média plasma D30pp (mg/dL) | 121 | 21,5 | 55 | 28,1 | ≈ 0 |
| Score médio uterino D30pp (0-3) | 119 | 1,4 | 27 | 1,3 | 0,71 |
| Ciclicidade D30pp (n (%)) | 119 | 40 (33,6) | 54 | 23 (42,6) | 0,44 |
| Involução cervico-uterina D30pp (n (%)) | 119 | 104 (87,4) | 54 | 49 (90,7) | 0,87 |
| Morte/Refugo Involuntário (n (%)) | 126 | 16 (12,7) | 60 | 13 (21,7) | 0,18 |
| Número de vacas com PG antes 1ª IA | 110 | 58 (52,7) | 47 | 12 (25,5) | 0,042 |
| Intervalo entre parto e IA (dias) | 96 | 78,6 | 34 | 89,9 | 0,054 |
| Taxa de concepção à 1ª IA (n (%))* | 70 | 24 (34,3) | 17 | 8 (47,1) | 0,52 |

* fêmeas com diagnóstico de gestação já realizado

6.6 Efeito da Doença Associada ao Parto nos parâmetros biológicos, metabólicos e reprodutivos

A relação entre as DAP e os parâmetros biológicos, metabólicos e reprodutivos está apresentada na Tabela 7.

Tabela 7. Relação entre a Doença Associada ao Parto e os parâmetros biológicos, metabólicos e reprodutivos

| Parâmetro | DOENÇA D10pp | | | | P |
|---|--------------|------------|-----|-----------|--------------|
| | Não | | Sim | | |
| | n | valor | n | valor | |
| CC ao parto (1-5) | 128 | 4,0 | 58 | 3,9 | 0,052 |
| CC D30pp (1-5) | 123 | 3,3 | 53 | 3,1 | 0,039 |
| CC diferença parto-D30pp | 123 | 0,8 | 53 | 0,8 | 0,88 |
| Temperatura rectal média até D10pp (°C) | 128 | 39,0 | 58 | 39,1 | 0,17 |
| Temperatura anómala até D10pp (n (%)) | 128 | 91 (71,1) | 58 | 47 (81) | 0,58 |
| Score vaginal médio D4-6pp (0-4) | 128 | 1,3 | 58 | 2,4 | ≈ 0 |
| Score vaginal médio D8-10pp (0-4) | 128 | 2,3 | 58 | 2,8 | 0,06 |
| BHB médio plasma D8-10pp (mmol/L) | 128 | 1,3 | 58 | 1,17 | 0,27 |
| Ureia média plasma D8-10pp (mg/dL) | 128 | 20,6 | 58 | 20,1 | 0,62 |
| Ureia média plasma D30pp (mg/dL) | 123 | 24,7 | 53 | 21,1 | 0,003 |
| Score médio uterino D30pp (0-3) | 101 | 1,2 | 45 | 1,7 | 0,003 |
| Ciclicidade D30pp (n (%)) | 122 | 49 (40,2) | 51 | 14 (27,5) | 0,27 |
| Involução cervico-uterina D30pp (n (%)) | 122 | 112 (91,8) | 51 | 41 (80,4) | 0,59 |
| Morte/Refugo Involuntário (n (%)) | 128 | 13 (10,2) | 58 | 16 (27,6) | 0,011 |
| Número de vacas com PG antes 1ª IA | 115 | 49 (43,69) | 42 | 21 (50) | 0,614 |
| Intervalo entre parto e IA (dias) | 96 | 80,6 | 34 | 84,4 | 0,51 |
| Taxa de concepção à 1ª IA (n (%))* | 64 | 27 (42,2) | 23 | 5 (21,7) | 0,22 |

* fêmeas com diagnóstico de gestação já realizado

6.7 Relação entre a presença de Endometrite ao D30pp e os parâmetros biológicos, metabólicos e reprodutivos

Na tabela 8 encontra-se expressa a relação entre a presença de endometrite e os diversos parâmetros em estudo.

Tabela 8. Relação entre a presença de Endometrite ao D30pp e os parâmetros biológicos e reprodutivos recolhidos no decorrer do estudo.

| Parâmetro | ENDOMETRITE | | | | P |
|---|-------------|------------|-----|-----------|--------------|
| | Não | | Sim | | |
| | n | valor | n | valor | |
| CC ao parto (1-5) | 109 | 4,2 | 28 | 4 | 0,51 |
| CC D30pp (1-5) | 109 | 3,3 | 28 | 3,1 | 0,09 |
| CC diferença parto-D30pp | 109 | 0,7 | 28 | 0,9 | 0,23 |
| Temperatura rectal média até D10pp (°C) | 109 | 39,0 | 28 | 39,1 | 0,09 |
| Temperatura anômala até D10pp (n (%)) | 109 | 77 (70,6) | 28 | 20 (71,4) | 0,97 |
| Score vaginal médio D4-6pp (0-4) | 108 | 1,2 | 28 | 2,4 | ≈ 0 |
| Score vaginal médio D8-10pp (0-4) | 109 | 2,2 | 28 | 3,0 | 0,022 |
| BHB médio plasma D8-10pp (mmol/L) | 109 | 1,3 | 28 | 0,9 | 0,044 |
| Ureia média plasma D8-10pp (mg/dL) | 109 | 20,6 | 28 | 19,5 | 0,41 |
| Ureia média plasma D30pp (mg/dL) | 109 | 24,9 | 28 | 22,4 | 0,11 |
| Score médio uterino D30pp (0-3) | 87 | 1,0 | 28 | 2,4 | ≈ 0 |
| Ciclicidade D30pp (n (%)) | 108 | 46 (42,6) | 28 | 5 (17,9) | 0,080 |
| Involução cervico-uterina D30pp (n (%)) | 108 | 105 (97,2) | 28 | 14 (50,0) | 0,058 |
| Número de vacas com PG antes 1ª IA | 103 | 45 (43,7) | 24 | 10 (41,6) | 0,91 |
| Intervalo entre parto e IA (dias) | 85 | 80,3 | 21 | 81,9 | 0,82 |
| Taxa de concepção à 1ª IA (n (%))* | 56 | 21 (37,5) | 15 | 8 (53,3) | 0,49 |

* fêmeas com diagnóstico de gestação já realizado

6.8 Relação entre as concentrações de BHB ao D10pp e a Condição Corporal ao parto

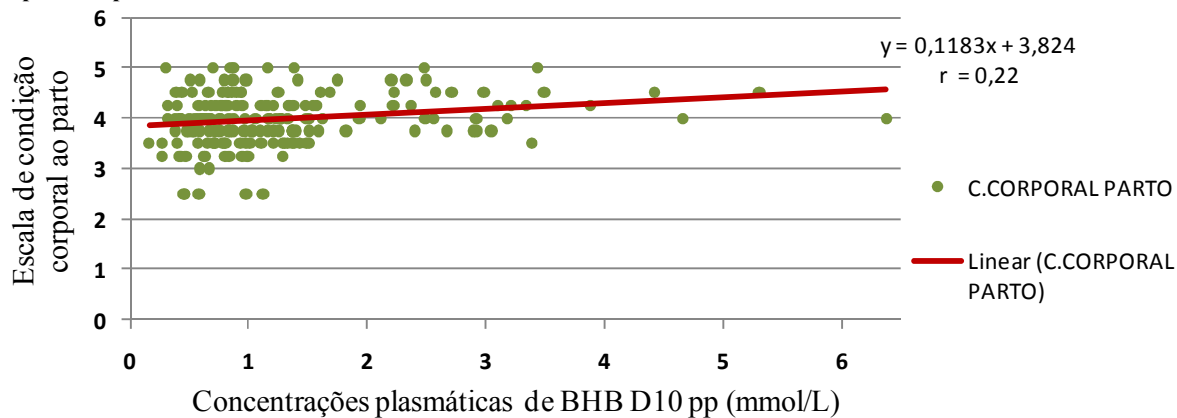
A Tabela 9 apresenta a estatística descritiva e a correlação de *Pearson* entre os parâmetros CC ao parto e as concentrações plasmáticas de BHB ao D10pp e o Gráfico 4 ilustra a regressão entre os dois parâmetros.

Tabela 9. Relação entre a concentração plasmática de β -hidroxibutirato ao D8-10pp e a CC ao parto

| | <i>n</i> | Média | Erro Padrão | Desvio Padrão | IC95% | <i>r</i> | <i>P</i> (<i>Pearson</i>) |
|----------------------------------|----------|-------|----------------|------------------|-------|----------|-----------------------------|
| BHB plasma (mmol/L) ¹ | 186 | 1,28 | 0,07 | 0,97 | 0,14 | 0,22 | 0,002 |
| CC ao parto (1-5) | 186 | 3,98 | 0,04 | 0,52 | 0,07 | | |

¹Medição efectuada por espectrofotometria

Gráfico 4. Regressão entre os valores das concentrações de β -hidroxibutirato plasmática ao D10pp e a condição corporal ao parto



6.9 Relação entre as concentrações plasmáticas de BHB ao D10pp e a presença de Deslocamento de Abomaso

Esta relação está apresentada na Tabela 10.

Tabela 10. Relação entre a concentração média de BHB no plasma entre o dia 8-10 pós-parto e a presença de DAE.

| Parâmetro | Outros ¹ | | Sãos ² | | Doentes ³ | |
|----------------------|---------------------|--------------------|-------------------|--------------------|----------------------|--------------------|
| | <i>n</i> | valor | <i>n</i> | Valor | <i>n</i> | valor |
| BHB D8-10pp (mmol/L) | 48 | 1,014 ^a | 128 | 1,336 ^b | 10 | 1,898 ^c |

¹ Animais que apresentaram outro tipo de doenças, com exceção da DAE

² Animais que não apresentaram qualquer tipo de doença

³ Animais que apenas apresentaram DAE

ab, p = 0,048 (LSD)

bc, p = 0,074 (LSD)

ac, p = 0,009 (LSD)

6.10 Influência dos parâmetros metabólicos na Ciclicidade e na Involução cervico-uterina ao D30pp e na taxa de concepção à 1ª IA.

A Tabela 11 apresenta o efeito das concentrações de BHB e de ureia ao D10pp e D30pp, sobre a ciclicidade e involução cervico-uterina ao D30pp e sobre a taxa de concepção à 1º IA.

Tabela 11. Influência dos parâmetros metabólicos plasmáticos sobre a taxa de concepção à 1ª IA, a ciclicidade e a involução cervico-uterina ao D30pp

| Parâmetro | Ciclicidade | | | | Involução cervico-uterina D30pp | | | | Taxa concepção à 1º IA | | | |
|---------------|-------------|-------|-------|--------------|---------------------------------|-------|-------|--------------|------------------------|-------|-------|----------|
| | D30pp | | | <i>P</i> | | | | <i>P</i> | | | | <i>P</i> |
| | <i>n</i> | Não | Sim | | <i>n</i> | Não | Sim | | <i>n</i> | Não | Sim | |
| BHB D8-10pp | 173 | 1,21 | 1,19 | 0,89 | 173 | 1,00 | 1,23 | 0,26 | 87 | 1,18 | 1,01 | 0,29 |
| Ureia D8-10pp | 173 | 20,42 | 20,38 | 0,97 | 173 | 17,59 | 20,77 | 0,024 | 87 | 20,06 | 19,71 | 0,79 |
| Ureia D30pp | 173 | 22,37 | 25,90 | 0,002 | 173 | 22,55 | 23,80 | 0,47 | 87 | 22,87 | 21,99 | 0,49 |

6.11 Relação entre Taxa de Concepção à 1ª IA com a Ciclicidade e a Involução Cervico-uterina ao D30pp.

Tabela 12. Relação entre a Taxa de Concepção e a Ciclicidade uterina ao D30pp

| | Não Cíclicas | Cíclicas | <i>P</i> |
|----------------|---------------|---------------|----------|
| Taxa Concepção | 17/48 (35,4%) | 15/39 (38,5%) | 0,84 |

Tabela 13. Relação entre a Taxa de Concepção e a Involução Cervico-uterina uterina ao D30pp

| | Com involução | Sem involução | <i>P</i> |
|----------------|---------------|---------------|----------|
| Taxa Concepção | 3/13 (23,1%) | 29/74 (39,2%) | 0,43 |

7. Discussão

7.1 Relação entre as concentrações de ureia no plasma e no leite ao D30pp

A média das concentrações de ureia foi significativamente maior no leite do que no plasma, aproximadamente o dobro nas primeiras em relação às segundas. Por outro lado, o elevado valor do desvio padrão referente à concentração média de ureia no leite ao D30pp, mostra que a dispersão dos valores encontrados é maior do que nos relativos à concentração média de ureia no plasma.

Contrariamente ao apresentado, Butler, Calaman e Beam (1996), referem que as concentrações de ureia no plasma e no leite na mesma vaca não diferem ($20,9 \pm 0,7$ e $22,1 \pm 0,6$ respectivamente; $P = 0,16$) e que a correlação entre as duas mensurações se apresentava alta ($r = 0,82$). Apenas foram observadas diferenças entre as duas mensurações quando as colheitas de sangue se distanciaram cerca de 4 a 5 horas das colheitas de leite, tendo ocorrido, nesse intervalo de tempo, a alimentação dos animais. Elrod e Bulter, (1993) e Gustafsson e Palmquist, (1993) citados por Butler *et al.*, (1996) referem que a altura da recolha das amostras deve ter em conta a hora a que é feita a alimentação pois os picos de ureia no leite e no plasma dão-se em tempos diferentes.

No presente estudo, as colheitas de sangue e de leite foram realizadas com um intervalo de sensivelmente 5 minutos, por isso, o risco da alimentação ter influenciado de forma diferente as concentrações de ureia em ambos os fluidos encontra-se minimizada.

Contudo, no estudo de Butler *et al.*, (1996) o processamento das amostras de leite foi diferente. As amostras, antes de congeladas, foram centrifugadas a $1,120 \times g$ por 20 minutos, de forma a remover a camada gorda do leite. A ausência deste procedimento pode eventualmente afectar a mensuração da concentração da ureia no leite visto que a centrifugação poderá garantir uma melhor conservação do leite e uma melhor homogeneização da amostra. A presença de micorgotículas lípidicas em suspensão poderá eventualmente ter afectado a leitura espectrofotométrica realizada neste estudo.

As cooperativas leiteiras prestam como serviço, aos seus associados, a mensuração da ureia no leite. No entanto, os criadores referem frequentemente a variabilidade acentuada dos resultados para a mesma população animal em datas muito próximas. Também referem médias relativas ao tanque do leite com elevada variação entre amostragens, sem que as concentrações de manejo, em particular a alimentar, sofram variação no mesmo período (L., Lopes da Costa, comunicação pessoal, Junho, 21, 2010).

Este estudo evidencia a variabilidade dos resultados quando a mensuração é feita no leite em relação ao plasma, o que traduz uma menor precisão da monitorização sequencial dos valores da ureia endógena para efeitos de controlo nutricional e reprodutivo.

Quando o manejo alimentar permanece estabilizado, ocorrem apenas pequenas variações sequenciais nas concentrações plasmáticas de ureia, como é evidenciado pelas médias encontradas ao D10pp e D30pp. O ligeiro incremento observado entre estes dois momentos (cerca de 3mg/dl) reflecte, provavelmente, a alteração metabólica relacionada com o aumento da produção leiteira.

7.2 Relação entre as concentrações sanguíneas de BHB determinadas pela técnica laboratorial e pelo “precision Xceed®”

O método laboratorial do teste padrão para doseamento de BHB, apresenta algumas dificuldades de execução, por se tratar de uma técnica demorada que requer equipamento e pessoal especializado (Voyvoda & Erdogan 2010). No sentido de validar a medição efectuada pelo aparelho “precision Xceed®”, utilizado para a mensuração de corpos cetónicos em humanos diabéticos, foi realizada uma comparação com um teste *Gold Standard* de execução laboratorial.

Os resultados deste estudo evidenciaram que, embora o aparelho portátil promova uma medição em média, por defeito, da concentração de BHB plasmático, não há diferenças significativas entre os valores obtidos por ambos os métodos e ocorre uma forte correlação ($r = 0,92$) entre elas.

Em acordo com o que foi concluído por Voyvoda e Erdogan (2010), a mensuração de BHB através do “precision Xceed®” apresenta precisão que possibilita a sua utilização de rotina na prática clínica bovina.

7.3 Prevalência das doenças associadas ao parto (DAP)

A prevalência das DAP foi semelhante nas duas explorações e encontra-se dentro dos valores referidos pela bibliografia (Anexo 3) (Kelton Lissemore, Martin, 1998; Gulay *et al*, 2007).

7.4 Efeito da exploração nos parâmetros biológicos, metabólicos e reprodutivos.

Na comparação dos resultados relativos aos parâmetros biológicos, metabólicos e reprodutivos entre as duas explorações, foi possível identificar diferenças significativas entre os dois locais. Com efeito, embora as médias do parâmetro CC ao parto e ao D30pp não tenham apresentado diferenças estatisticamente significativas entre as duas explorações, a análise revela que a diferença das CC entre o parto e o D30pp, é maior na Exploração 2 do que na Exploração 1 ($P = 0,02$), o que traduz uma maior perda de condição corporal nesta exploração.

Relativamente aos níveis de BHB no plasma ao D8-10pp, verificou-se que a concentração média deste metabolito foi significativamente maior na Exploração 2 do que na Exploração 1 ($P \approx 0$). Esta diferença pode ser atribuída à maior perda de condição corporal, que conduz a um aumento do balanço energético negativo (Cameron *et al*, 1998). Segundo Herdt, (2000), citado por Samarütel, *et al*, (2008) a elevada necessidade do organismo em repor os níveis de glucose, de modo a compensar a falta de energia, promove o aumento de corpos cetónicos. Acresce que, animais com maior BEN apresentam um maior período de tempo até à primeira ovulação (Beam & Butler, 1999), atraso na involução cervico-uterina e que a probabilidade de concepção à 1ª IA diminui (Gillund *et al*, 2001).

Neste estudo, as diferenças encontradas entre explorações na perda de CC entre o parto e o D30pp, e nas concentrações de BHB não se reduziram em diferenças no reinício da actividade cíclica e na taxa de concepção à 1ª IA. No entanto, o intervalo entre o parto e a 1ª IA foi mais reduzido na Exploração 1 do que na Exploração 2 ($P = 0.054$). Esta diferença pode ter como explicação a diferença existente entre o número de tratamentos indutores do cio (administrações PGF_{2α}) por animal, antes da 1ª IA, que foi superior na Exploração 1 em relação à Exploração 2.

A diferença observada entre as 2 explorações nas concentrações médias de ureia ao D30pp pode estar relacionada com as diferenças de produção leiteira registadas em ambas as explorações.

7.5 Efeito da Doença Associada ao Parto nos parâmetros biológicos, metabólicos e reprodutivos

A ocorrência de DAP afectou significativamente os parâmetros biológicos, metabólicos e reprodutivos. A CC ao parto e no D30pp dos animais com DAP foi menor que nos animais sãos. Estes resultados podem ser justificados porque a ocorrência de doença pode originar redução da ingestão, o que promove uma diminuição da condição corporal. A mesma razão poderá justificar que os animais não doentes apresentem níveis de ureia D30pp significativamente mais elevados do que os que tiveram DAP.

Apesar de a temperatura ser considerada como indicador de doença (Sheldon *et al*, 2004), neste estudo não foram observadas diferenças significativas entre animais com e sem DAP ($P = 0,173$). Este resultado, de alguma forma inesperado, pode ser consequência da medicação fornecida aos animais que apresentam episódios febris e por essa razão a comparação se apresentar desvirtuada.

O “score” vaginal ao D4-6pp e D8-10pp, bem como o “score” uterino ao D30pp apresentam-se aumentados nas vacas com DAP em relação às vacas sãs.

O stress físico e metabólico ligado à gravidez, parto e início da lactação, promovem alterações hormonais, metabólicas e imunitárias. Este período está associado a uma diminuição da resistência dos animais e consequentemente a um aumento do risco de contrair DAP (Mallard *et al*, 1998). Após o parto as barreiras físicas (vulva, vestibulo, vagina e cérvix) do útero encontram-se debilitadas, devido ao processo de expulsão do feto, o que permite a entrada de agentes bacterianos por vários dias. Relativamente ao sistema imunitário, as principais células responsáveis pela fagocitose das bactérias invasoras são os neutrófilos, contudo, a activação dos neutrófilos encontra-se diminuída após o parto. Embora o mecanismo não seja totalmente claro, sugere-se que as DAP sejam responsáveis por exercer um efeito negativo sobre os neutrófilos, através das modificações que promovem no ambiente uterino devido às alterações hormonais e metabólicas que afectam o animal após o parto (Sheldon, 2004a).

Outros factores podem, de igual forma, influenciar a contaminação bacteriana no útero. Mateus & Lopes da Costa (2002) verificaram que os níveis séricos de cálcio (Ca) eram maiores em vacas com puerpério normal e que a concentração ia sucessivamente diminuindo conforme a gravidade da infecção, o que pressupõe que existe uma associação entre o grau de infecção uterina e as concentrações sanguíneas de Ca. Acresce que as infecções uterinas são responsáveis por atrasar a involução uterina e promover a acumulação de líquido intra-uterino. Esta contaminação pode permanecer para além do tempo normal, o que induz um “score” uterino mais elevado ao D30pp. (Mateus *et al*, 2002).

Refere-se, que os resultados da influência do factor DAP sobre a taxa de concepção podem ser afectados pelo facto de muitos dos animais presentes no estudo, ainda não terem um diagnóstico de gestação realizado, o que reduz a amostra a 87 animais de um total de 157.

7.6 Relação entre a presença de Endometrite ao D30pp e os parâmetros biológicos, metabólicos e reprodutivos

Em ambas as explorações foram identificados 28 animais com endometrite ao D30pp. Estas vacas apresentaram-se com um “score” vaginal ao D4-6pp e D8-10pp e com “score” uterino ao D30pp maior do que as vacas sãs, tendo igualmente apresentado uma tendência estatística para uma diminuição das taxas de ciclicidade e de involução cervico-uterino ao D30pp. No entanto, o intervalo entre o parto e a 1ª IA e a taxa de concepção à 1ª IA não foram significativamente diferentes em vacas com endometrite ao D30pp e em vacas sãs, contrariando ao que seria de esperar.

Vários estudos demonstraram que a presença de endometrite influencia negativamente a retoma da ciclicidade através de vários mecanismos como o atraso na foliculogénese e a supressão da taxa de crescimento folicular no pós-parto (Peter & Bosu, 1987), o aumento da

incidência de foliculogénese anormal, de anestro prolongado (Opsomer *et al*, 2000) e de fase lútea prolongada (Mateus *et al*, 2002a), corroborando os resultados obtidos neste estudo.

Os resultados obtidos no intervalo entre o parto e a 1ª IA e na taxa de concepção à 1ª IA entre os animais sãos e os que apresentaram endometrite, podem ser consequência da amostragem reduzida ou do tratamento com PGF_{2α} administrado aos animais. O uso de PGF_{2α} no pós-parto, segundo Archbald *et al*, (1994), melhora a fertilidade em vacas leiteiras. No entanto, LeBlanc e colegas (2002) mostraram que após as 4 semanas pós-parto, o tratamento com PGF_{2α} não exerceu influência na taxa de gestação quando comparado com animais sãos.

Este facto pode ainda estar relacionado com uma possível resolução espontânea da endometrite antes do início do período de IA (Hoedemaker 1998). Mateus, Costa, Carvalho, Serra e Silva (2002d) sugerem que o aumento tardio da capacidade oxidativa dos polimorfonucleares neutrófilos (PMN), bem como o aumento do índice de fagocitose e do número de PMN a fagocitar activamente, podem favorecer a resolução espontânea da endometrite.

7.7 Relação entre as concentrações de BHB ao D10pp e a Condição Corporal ao parto

A vaca leiteira no início do puerpério encontra-se em balanço energético negativo, devido à reduzida capacidade de ingestão face às necessidades metabólicas. Assim, existe uma maior necessidade de mobilização de lípidos do tecido adiposo para compensar a falta de energia, o que, consequentemente, aumenta a concentração de corpos cetónicos. (Herdt, 2000 citado por Samarütel *et al*, 2008).

No presente estudo, a correlação entre a condição corporal D10pp e a média de BHB plasma D8-10pp, revelou-se baixa ($r = 0,22$), contudo, o aumento da concentração de corpos cetónicos endógenos aumenta significativamente o risco de desenvolver cetose clínica e outras DAP (Gillund *et al*, 2001).

O baixo coeficiente de correlação pode dever-se ao facto de o aumento do balanço energético negativo e, consequentemente, das concentrações endógenas de corpos cetónicos estar relacionada quer com CC ao parto baixas como altas. De facto, vacas com elevadas CC ao parto experimentam uma maior diminuição da capacidade de ingestão e do BEN.

7.8 Relação entre as concentrações plasmáticas de BHB aos D10pp e a presença de Deslocamento de Abomaso

A associação encontrada entre o balanço energético negativo no pós-parto, reflectido em elevadas concentrações endógenas de AGNE e no desenvolvimento de cetose, é um dos principais factores de risco de DAE (Cameron *et al*, 1998). No presente estudo, as vacas com

DAE apresentaram concentrações plasmáticas de BHB ao D10pp significativamente maiores do que as vacas sãs.

Na comparação realizada nas duas explorações, foi possível verificar que a ocorrência de DAE apenas tinha sido registada na Exploração 2 e que essa mesma exploração apresentava uma maior CC média ao parto. Estas semelhanças vêm corroborar os resultados obtidos por Cameron e colegas (1998).

Inesperado, foi o facto de animais sãs apresentarem uma concentração maior de BHB plasmáticos ao D10pp que os animais com outras DAP ($P = 0$) visto que, estudos realizados por Duffield, Lissemore, McBride & Leslie, (2009) referem que as concentrações de BHB estão significativamente relacionadas com a presença de doença nas duas primeiras semanas após o parto.

7.9 Influência dos parâmetros metabólicos na Ciclicidade e na Involução cervico-uterina ao D30pp e na taxa de concepção à 1ª IA.

7.9.1 Influência dos parâmetros metabólicos na Ciclicidade e na Involução cervico-uterina.

Butler (1998) afirma que a alimentação através de dietas ricas em proteína, aparentemente, não tem uma forte influência no reinício da actividade ovária no puerpério. No entanto, Staples e Thaxter (2001), citados por Tamminga (2006), concluem que elevados níveis de PDR na dieta (19-20%), resultando em maiores concentrações plasmáticas de ureia, são responsáveis por promover um atraso na primeira ovulação.

Neste estudo, foi encontrada diferença significativa nas concentrações de ureia plasmática ao D30pp entre vacas cíclicas e acíclicas ao D30pp ($P = 0,002$) mas, ao contrário do que foi concluído por Staples e Thaxter (2001), as concentrações de ureia foram superiores nos animais que ao D30pp já estão cíclicos. Isto pode reflectir uma maior capacidade de ingestão e de produção leiteira nos animais cíclicos em relação aos acíclicos D30pp. Também Fahey e O'Callaghan, citados por O'Callaghan *et al*, (2001), verificaram a presença de uma maior concentração de ureia nos animais com diagnóstico de gestação positivo à 1ªIA em comparação com os que não ficaram gestantes, embora essas diferenças não tenham sido grandes.

Elrod e Butler (1993) defendem que, animais com níveis superiores a 16 mg/dL apresentam uma diminuição na fertilidade, pois existe alteração na composição e pH do fluido uterino. Quando a vaca se encontra sujeita a níveis de ureia elevados, ou seja, concentrações acima de

19 a 20 mg/dL, a acção da progesterona na manutenção do pH é alterada, aumentando a secreção das prostaglandinas (Butler, 1998).

Neste estudo, no entanto, e à semelhança do verificado para a taxa de ciclicidade ao D30pp, as vacas com involução cervico-uterina completa apresentaram concentrações de ureia ao D8-10pp significativamente maiores do que as que não apresentavam involução cervico-uterina completa. Sugere-se que este resultado seja, igualmente, a expressão da maior ingestão e produção leiteira das vacas com maiores concentrações de ureia endógena.

7.9.2 Influência dos parâmetros metabólicos na taxa de concepção à 1ª IA

Um estudo realizado por Canfield *et al* (1990) concluiu que a taxa de concepção ao primeiro serviço foi significativamente mais baixa nas vacas sujeitas a dietas com elevados níveis de proteína (31% vs 48%). Por outro lado, Butler, (1998) defende que o aumento da concentração da ureia sanguínea, acima de 19 ou 20 mg/dL, está associada à diminuição da taxa de concepção.

No presente estudo, as médias de ureia ao D8-10pp e ao D30-37pp, estiveram compreendidas entre 19 mg/dl e 23 mg/dl, sendo similares nos animais com e sem diagnóstico de gestação positivo à 1ª IA. Também a concentração plasmática BHB ao D8-10pp foi semelhante nos animais com e sem concepção à 1ª IA, contrariando Butler, (2003), citado por De Feu e colegas, (2009), que relata que animais com maior BEN e, por consequência, maiores concentrações de corpos cetónicos, apresentam uma capacidade reduzida de concepção.

No entanto, o número de animais em que o registo do diagnóstico de gestação foi efectuado, até ao momento da escrita desta dissertação corresponde apenas a cerca de metade do total da amostra ($n = 87$) o que poderá estar a originar conclusões eventualmente desvirtuadas.

7.10 Relação entre Taxa de Concepção à 1ª IA e Ciclicidade e Involução Cervico-uterina ao D30pp.

Thatcher e Wilcox (1973), Staples e colaboradores, (1990), Lamming e Darwash (1998) e Gautam *et al*, (2010), concluíram que um maior número de ciclos éstricos sucessivos, antes do primeiro serviço, resulta num melhor ambiente no oviduto e no útero, aumentando a taxa de concepção. Também uma involução uterina precoce induz um recomeço da actividade lútea mais cedo. Estes factos originam um aumento na fertilidade pós-parto.

Neste estudo, a taxa de concepção não foi influenciada pela presença/ausência de ciclicidade e involução cervico-uterina ao D30pp. Mais uma vez, no entanto, estas conclusões poderão estar afectadas pela reduzida amostra com diagnóstico de gestação já realizado.

8. Conclusão

Com a realização deste trabalho experimental pretendeu-se avaliar a relação entre a incidência das doenças associadas ao parto e parâmetros biológicos, metabólicos e de fertilidade em vacas de alta produção leiteira. A partir dos resultados obtidos, as conclusões fundamentais foram as seguintes:

- As concentrações de ureia no leite apresentaram variabilidade e valores superiores em comparação com as concentrações de ureia plasmática, apesar das colheitas de leite e de sangue terem sido realizadas em simultâneo. Contudo, a forma como o processamento do leite foi efectuado poderá ter influenciado os resultados obtidos.
- A utilização do “precision Xceed®” revelou-se um método fidedigno na detecção da concentração de BHB plasmático, registando valores muito próximos do teste *Gold Standard* de execução laboratorial.
- A ocorrência de DAP significativamente aumentou o “score” vaginal até ao D10pp e o “score” uterino ao D30pp, tendo retardado, embora de forma não significativa, a involução cervico-uterina e a retoma na ciclicidade ao D30pp e a taxa de concepção à 1ªIA. A taxa de morte/refugo foi significativamente maior nas vacas que evidenciaram DAP do que nas que não apresentaram doença. Tudo isto indica um relevante efeito da DAP na fertilidade subsequente e eficiência económica da exploração.
- A presença de endometrite ao D30pp esteve significativamente associada com um atraso da involução cervico-uterina e da retoma da ciclicidade ao D30pp. No entanto, a taxa de gestação das vacas com endometrite foi inclusivé superior (embora não significativamente) à das vacas que não apresentaram endometrite. Isto pode ser o reflexo da resolução espontânea da infecção, do tratamento instituído ou da reduzida amostragem que à data da conclusão do estudo apresenta diagnóstico de gestação concluído.
- A concentração plasmática de BHB ao D10pp esteve relacionada com a ocorrência de deslocamento do abomaso podendo ser utilizada como indicador/marcador de risco para esta doença.
- A concentração plasmática de ureia ao D10pp e D30pp afectou significativamente a involução cervico-uterina e a retoma da ciclicidade ao D30pp mas não afectou a taxa de gestação à 1ªIA, embora nestas últimas análises, como já referido, a amostra disponível seja reduzida.

9. Bibliografia

- Archbald, L. F., Constant, S., Tran, T., Risco, C., Klapstein, E. & Elliott, J. (1994). Effect of sequential treatment with prostaglandin F2 alpha and/or oxytocin on estrus and pregnancy rate of lactating dairy cows. *Theriogenology*, 42, 773-780.
- Baird, G. D. (1982). Primary ketosis in the high-producing dairy cow: clinical and subclinical disorders, treatment, prevention, and outlook. *Journal of Dairy Science*, 65, 1-10.
- Barton, B. A., Rosario, H. A., Anderson, G. W., Grindle, B. P. & Carroll, D. J. (1996). Effects of dietary crude protein, breed, parity, and health status on the fertility of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 79, 2225-2236.
- Beam, S. W. & Butler, W. R. (1999). Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows [abstract]. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 54, 411-424.
- Benzaquen, M. E., Risco, C. A., Archbald, L. F., Melendez, P., Thatcher, M. J. & Thatcher W. W. (2007). Rectal temperature, calving-related factors, and the incidence of puerperal metritis in postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90, 2804-2814.
- Berry, D. P., Buckley, F., Dillon, P., D. Evans R., Rath, M. & Veerkamp, R. F. (2003). Genetic Relationships among Body Condition Score, Body Weight, Milk Yield, and Fertility in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 86, 2193-2204.
- Bewley, J.M., Einstein, M.E., Grott, M.W. & Schutz, M.M. (2008). Comparison of reticular and rectal core body temperatures in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 91, 4661-4672.
- Blowey, R.W. (1999). Fertility and its control. In R. W. Blowey, *A veterinary book for dairy farmers*, (3th ed.). (pp. 231-278). Ipswich: Old Pond Publishing.
- Bruun, J., Ersbøll, A. K., & Alban, L. (2002). Risk factors for metritis in Danish dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine*, 54, 179-90.
- Butler, W. R. & Smith, R. D (1989). Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 72, 767-83.
- Butler, W. R. (1998). Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 81, 2533-2539.
- Butler, W. R. (2000). Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Animal Reproduction Science*, 60-61, 449-57.
- Butler, W. R., Calaman, J. J. & Beam, S. W. (1996) Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. *Journal of Animal Science*, 74, 858-856.
- Cameron, R. E., Dyk, P. B., Herdt, T. H., Kaneene, J. B., Miller, R., Bucholtz, H. F., Liesman, J. S., Vandehaar M. J. & Emery R. S. (1998). Dry cow diet, management, and energy balance as risk factors for displaced abomasum in high producing dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 81, 132-9.

- Canfield, R. W., Sniffen, C. J. & Butler W. R. (1990). Effects of excess degradable protein on postpartum reproduction and energy balance in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 73, 2343-2349.
- Carrier J, Stewart S, Godden S, Fetrow J & Rapnicki P (2004). Evaluation and use of three cowside tests for detection of subclinical ketosis in early postpartum cows. *Journal of Dairy Science*, 87, 3725-35.
- Carroll, D. J., Barton, B. A., Anderson, G. W. & Smith, R. D, (1988). Influence of protein intake and feeding strategy on reproductive performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 71, 3470-3481.
- Chen, P.J. (1998). Temperature of a health cow. Acedido em Abr. 28, 2010, em “<http://hypertextbook.com/facts/1998/PeiJunChen.shtml>” cows. *Theriogenology*, 21, 279-287.
- Darwash, A. O., Lamming, G. E. & Wolliams, J. A. (1997). The phenotypic association between the interval to post-partum ovulation and traditional measures of fertility in dairy cattle. *Animal Science*, 65, 9-16.
- De Feu, M. A., Evans, C. O., Lonergan, P. & Butler, S. T. (2009). The effect of dry period duration and dietary energy density on milk production, bioenergetic status, and post-partum ovarian function in Holstein-Friesian dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92, 6011-6022.
- De Wit, A. A., Cesar, M. L. & Kruip, T. A. (2001). Effect of urea during in vitro maturation on nuclear maturation and embryo development of bovine cumulus-oocyte-complexes. *Journal of Dairy Science*, 84, 1800-4.
- Dohmen, M., Lohuis, J., Huszenicza, G., Nagy, P. & Gacs, M. (1995). The relationship between bacteriological and clinical findings in cows with subacute/chronic endometritis. *Theriogenology*, 43, 1379-1388.
- Drackley, J. K. (1999). Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *Journal of Dairy Science*, 82, 2259-73.
- Drillich, M., Raab, D., Wittke, M. & Heuwieser, W. (2005). Treatment of chronic endometritis in dairy cows with an intrauterine application of enzymes. A field trial. *Theriogenology*, 63, 1811-1823.
- Drost, M., Thomas, P. G., Seguin, B. & Troedsson, M. H. (2002). Female reproductive disorders. In B. P. Smith, *Large Animal Internal Medicine* (3^{ed.}), (pp. 1292-1332), St.Louis: Mosby.
- Duffield, T. F. (2000). Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 16, 231-253.
- Duffield, T. F., Lissemore, K. D., McBride, B. W. & Leslie, K. E. (2009). Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *Journal of Dairy Science*, 92, 571–580.

- Elrod, C. C. & Butler, W. R. (1993) Reduction of fertility and alteration of uterine pH in Heifers fed excess ruminally degradable protein. *Journal of Animal Science*, 71, 694-701.
- Enjalbert, F., Nicot, M. C., Bayourthe, C. & Moncoulon, R. (2001). Ketone bodies in milk and blood of dairy cows: relationship between concentrations and utilization for detection of subclinical ketosis. *Journal of Dairy Science*, 84, 583-9.
- Esslemont, R. J., Kossaibati, M. A. & Allock, J. (2001). Economics of fertility in dairy cows. In: Recording and evaluation of fertility traits in UK dairy cattle. Proceedings of a Workshop held in Edinburguer, 19th – 20th November 2001.
- Fangman, T. J. & Shannon, M. C. (2007). Diseases of the puerperal period. In: R. S. Youngquist & W. R. Threlfall, *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*, (2^a ed), (pp. 789-794), USA, WB Saunders, 2007.
- Fubini, S. & Divers, T. J. (2008). Noninfectious diseases of the gastrointestinal tract. In: T. J. Divers & S. F. Peek, *Rebhun's Diseases of Dairy Cattle*, (2^aed), (pp.130-199) China, WB Saunders, 2008. 358-365.
- Gautam, A., Nakao, T., Yamada, K. & Yoshida, C. (2010). Defining delayed resumption of ovarian activity postpartum and its impact on subsequent reproductive performance in Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 73, 180-189.
- Gillund, P., Reksen, O., Gröhn, Y. T. & Karlbergt K. (2001). Body condition related to ketosis and reproductive Performance in Norwegian dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 84, 1390-1396.
- Goff, J. P. & Horst, R. L. (1997). Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *Journal of Dairy Science*, 80, 1260-1268.
- Grabowski, N., Hamann, J. & Klein, G. (2008). Udder health and new disease rates in Holstein-Friesian cows in relation to their lactation number. *Proceedings of the 25th World Buiatrics Congress, Budapest, Hungary*.
- Grummer, R. R. (1995). Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *Journal of Animal Science*, 73, 2820-2833.
- Gulay, M. S., Liboni, M., Hayen, M. J. & Head, H. H. (2007). Supplementing Holstein Cows with Low Doses of Bovine Somatotropin Prepartum and Postpartum Reduces Calving-Related Diseases. *Journal of Dairy Science*, 90, 5439–5445.
- Gustafsson, A. H. & Palmquist, D. L. (1993). Diurnal variation of rumen ammonia, serum urea, and milk urea in dairy cows at high and low yields. *Journal of Dairy Science*, 76, 475-84.
- Gwazdauskas, F. C., Kendrick, K. W., Pryor, A. W. & Bailey, T. L. (2000). Impact of follicular aspiration on folliculogenesis as influenced by dietary energy and stage of lactation. *Journal of Dairy Science*, 83, 1625-34
- Hafez, E., & Hafez, B. (2004). *Reprodução Animal* (7 ed.). SP: Manole.

- Hillman, R. & Gilbert, R. O. (2008). Reproductive Diseases. In: T. J. Divers & S. F. Peek, *Rebhun's Diseases of Dairy Cattle*, (2nded), (pp.395-446) China, WB Saunders, 2008.
- Hoedemaker, M. (1998) Postpartal pathological vaginal discharges: to treat or not treat. *Reproduction of Domestic Animals*, 33, 139-146.
- Huszenicza, G., Janosi, S., Kulcsar, M., Korodi, P., Reiczigel, J., Katai, L., Peters, A. R. & De Rensis, F. (2005). Effects of clinical mastitis on ovarian function in post-partum dairy cows. *Reproduction of Domestic Animals*, 40, 199-204.
- Jordan, E. R. & Swanson L. V. (1979). Serum progesterone and luteinizing hormone in dairy cattle fed varying levels of crude protein. *Journal of Animal Science*, 48, 1154-1158.
- Jordan, E. R., Chapman, T. E., Holtan, D. W. & Swanson, L. V. (1983). Relationship of dietary crude protein to composition of uterine secretions and blood in high-producing postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 66, 1854-1862.
- Jorritsma, R., Wensing, Th., Kruip, Th. A. M., Vos, P. L. A. M. & Noordhuizen, J. P. T. M. (2003). Metabolic changes in early lactation and impaired reproductive performance in dairy cows. *Veterinary Research*, 34, 11-26.
- Kawashima, C., Kaneko, E., Montoya, C., Matsui, M., Yamagishi, N., Matsunaga, N., Ishii, M., Kida, K., Miyake, Y. & Miyamoto, A. (2006) Relationship between the first ovulation within three weeks postpartum and subsequent ovarian cycles and fertility in high producing dairy cows. *Journal of Reproduction and Development*, 52, 479-486.
- Kelton, D. F., Lissemore, K. D. & Martin, R. E. (1998). Recommendations for recording and calculating the incidence of selected clinical diseases of dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 81, 2502-2509.
- Kimura, K., Goff, J. P., Kehrli, M. E. Jr. & Reinhardt, T. A. (2002). Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 85, 544-50.
- Koller, A., Reist, M., Blum, J. W. & Küpfer, U. (2003). Time Empty and ketone body status in the early postpartum period of dairy cows. *Reproduction of Domestic Animals*, 38, 41-49.
- Kyung Han, Y. & Kim, H. (2005). Risk factors for retained placenta and the effect of retained on the occurrence of postpartum diseases and subsequent reproductive performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 6,53-59.
- Lamming, G. E. & Darwash, A. O. (1998). The use of milk progesterone profiles to characterize components of subfertility in milked dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 52, 175-190.
- Laven, R. A. & Drew, S. B. (1999). Dietary protein and the reproductive performance of cows. *Veterinary Record*, 11, 687-95.
- LeBlanc, S. J., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Bateman, K. G., Keefe, G. P., Walton, J. S. & Johnson, W. H. (2002). The effect of treatment of clinical endometritis on reproductive performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85, 2237-2249.

- Leroy, J. L., Vanholder, T., Delanghe, J. R., Opsomer, G., Van Soom, A., Bols, P. E. J., Dewulf, J. & Kruif, A. (2004). Metabolic changes in follicular fluid of the dominant follicle in high-yielding dairy cows early post partum. *Theriogenology*, 62, 1131-1143.
- Leroy, J. L., Vanholder, T., Opsomer, G., Van Soom, A. & de Kruif, A (2006). The in vitro development of bovine oocytes after maturation in glucose and beta-hydroxybutyrate concentrations associated with negative energy balance in dairy cows. *Reproduction of Domestic Animals*, 41, 119-123.
- Leroy, J. L., Opsomer, G., Van Soom, A., Goovaerts, I. G. & Bols, P. E. (2008a). Reduced fertility in high-yielding dairy cows: are the oocyte and embryo in danger? Part I. The importance of negative energy balance and altered corpus luteum function to the reduction of oocyte and embryo quality in high-yielding dairy cows [abstract]. *Reproduction of Domestic Animals*, 43, 612-622.
- Leroy, J. L., Van Soom, A., Opsomer, G., Goovaerts, I. G. & Bols, P. E. (2008b). Reduced fertility in high-yielding dairy cows: are the oocyte and embryo in danger? Part II. Mechanisms linking nutrition and reduced oocyte and embryo quality in high-yielding dairy cows [abstract]. *Reproduction of Domestic Animals*, 43, 623-632.
- Lévesque, P. (2004). *Less Mastitis: Better milk*. Canada: Hoard's Dairyman.
- Lewis, G. S. (1997). Uterine health and disorders. *Journal of Dairy Science*, 80, 984-94.
- Lindell, J. O., Kindahl, H., Jansson, L. & Edqvist, L. E. (1982). Post-partum release of Prostaglandin F₂ and uterine involution in the cow. *Theriogenology*, 17, 237-245.
- Livingstone, M. & Longbottom, D. (2006). What is the prevalence and economic impact of chlamydial infections in cattle? The need to validate and harmonise existing methods of detection. *The Veterinary Journal*, 172, 3-5.
- Lucy, M. C. (2001). Reproduction loss in high-producing dairy cattle: where will end? *Journal of Dairy Science*, 84, 1277-1293.
- Madej, A., Kindahl, H., Woyno, W., Edqvist, L. E. & Stupnicki, R. (1984). Blood levels of 15-keto-13, 14-dihydroprostaglandin F_{2α} during the postpartum period in primiparous cows. *Theriogenology*, 21, 279-287.
- Mallard, B. A., Dekkers, J. C., Ireland, M. J., Leslie, K. E., Sharif, S., Lacey, C., Lacey Vankampen, C., Wagter, L. & Wilkie, B. N. (1998). Alteration in immune responsiveness during the peripartum period and its ramification on dairy cow and calf health. *Journal of Dairy Science*, 81, 585-595.
- Mateus, L. & Lopes da Costa, L, Carvalho, H., Serra, P. & Robalo Silva, J. (2002d). Blood and intrauterine leukocyte profile and function in dairy cows that spontaneously recovered from postpartum endometritis. *Reproduction of Domestic Animals*, 37, 176-180.
- Mateus, L. & Lopes da Costa, L. (2002c). Peripartum blood concentration of calcium, phosphorus and magnesium in dairy cows with normal puerperium or puerperal endometritis. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 97, 35-38.

- Mateus, L., Costa, L. L., Diniz, P. & Ziecik, A. (2003). Relationship between endotoxin and prostaglandin (PGE2 and PGFM) concentrations and ovarian function in dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 76, 143-154.
- Mateus, L., Lopes da Costa, L., Alfaro Cardoso, J. J. & Robalo Silva, J. (2002b). Treatment of unobserved oestrus in a dairy cattle herd with low oestrous detection rate up to 60 days Post-partum. *Reproduction of Domestic Animals*, 37, 57-60.
- Mateus, L., Lopes da Costa, L., Bernardo, F. & Robalo Silva, J. (2002a). Influence of Puerperal Uterine Infection on Uterine Involution and Postpartum Ovarian Activity in Dairy Cows. *Reproduction of Domestic Animals*, 37, 31-35.
- McCormick, M. E., French, D. D., Brown, T. F., Cuomo, G. J., Chapa, A. M., Fernandez, J. M., Beatty, J. F. & Blouin, D. C. (1999). Crude protein and rumen undergradable protein effects on reproduction and lactation performance of Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 82, 2697-708.
- McGuire, M. A., Bauman, D. E., Dwyer, D. A. & Cohick, W. S. (1995). Nutritional modulation of the somatotropin/insulin-like growth factor system: response to feed deprivation in lactating cows. *Journal of Nutrition*, 125, 493-502.
- Meija, M. E. & Lacau-Mengido, I. M. (2005). Endometritis treatment with PGF_{2α} analog does not improve reproductive performance in a large dairy herd in Argentina. *Theriogenology*, 63, 1266-1276.
- Melendez, P. & Risco, C. A. (2005). Management of transition cows to optimize reproductive efficiency in dairy herds. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 21, 485-501.
- Mortimer, R. G., Farin, P. W. & Stevens, R. D. (1997). Reproductive examination of the Nonpregnant cow. In R. S. Youngquist, *Current Therapy in Large Animal Theriogenology* (pp. 268-275). Philadelphia: W.B. Saunders Co.
- Murray, J. M. & Smith, B. P. (2002). Diseases of the alimentary tract. In B. P. Smith, *Large Animal Internal Medicine*, (3rd ed), (pp.593-789), USA, Mosby.
- Noakes, D. E. (2009a). Endogenous and exogenous control of ovarian cyclicity. In D. E. Noakes, T. J. Parkinson & G. C.W. England, *Veterinary Reproduction and Obstetrics*. (9th ed.) (pp. 3-58). China: Saunders Elsevier, 2009.
- Noakes, D. E. (2009b). The puerperium. In D. E. Noakes, T. J. Parkinson & G. C.W. England, *Veterinary Reproduction and Obstetrics*. (9th ed.) (pp. 194-205). China: Saunders Elsevier, 2009.
- O'Callaghan, D., Lozano, J. M., Fahey, J., Gath, V., Snijders, S. & Boland, M. P. (2001). Relationship between nutrition and fertility in dairy cattle. *British Society of Animal Science*, Occasional Publication n° 26.
- Opsomer, G., Gröhn, Y. T., Hertl, J., Coryn, M., Deluyker, H. & Kruif, A. (2000). Risk factors for post partum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: a field study. *Theriogenology*, 53, 841-57.

- Parkinson, T. & Barrett, D. (2009b). Veterinary control of herd fertility. In D. E. Noakes, T. J. Parkinson & G. C.W. England, *Veterinary Reproduction and Obstetrics*. (9^a ed.) (pp. 517-558), China, Saunders Elsevier, 2009.
- Parkinson, T. (2009a). Infertility and subfertility in the cow: structural and function abnormalities, management deficiencies and non-specific infections. In D. E. Noakes, T. J. Parkinson & G. C.W. England, *Veterinary Reproduction and Obstetrics*. (9^a ed.) (pp. 393-475), China, Saunders Elsevier, 2009.
- Peek, S. F. & Divers, T. J. (2008). Metabolic Diseases. In: T. J. Divers & S. F. Peek, *Rebhun's Diseases of Dairy Cattle*, (2^aed), (pp.590-603), China, WB Saunders, 2008.
- Peter, A. T. & Bosu, W.T. (1988). Relationship of uterine infections and folliculogenesis in dairy cows during early puerperium. *Theriogenology*, 30, 1045-1051.
- Prendiville, D. J., Lowe, J., Earley, B., Spahr, P. & Kettlewell (2002). Radiotelemetry systems for measuring body temperature. *Beef Production Series*, 57. Grange Research Centre Dunsany, UK.
- Radostits, O. M., Gay, C. C., Hinchcliff, K. W. & Constable, P. D. (2007b). Metabolic diseases. In O. M. Radostits, C. C. Gay, K. W. Hinchcliff & P. D. Constable, *Veterinary medicine: A textbook of the diseases of Cattle, Cheep, Pigs, Goats and Horses: Part II Special Medicine, Chapter 29: Production diseases*. (10th ed.). (pp. 1613-1690). London: Saunders Elsevier.
- Radostits, O. M., Gay, C. C., Hinchcliff, K. W. & Constable, P. D. (2007c). Disease of the mammary gland. In O. M. Radostits, C. C. Gay, K. W. Hinchcliff & P. D. Constable (Eds.), *Veterinary medicine: A textbook of the diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horse: Part I General Medicine, Chapter 1: Clinical examination of the individual animal*. (10th ed.). (pp.3-21). Philadelphia: Elsevier Saunders.
- Radostits, O. M., Gay, C. C., Hinchcliff, K. W. & Constable, P. D. (2007d). Disease of the mammary gland. In O. M. Radostits, C. C. Gay, K. W. Hinchcliff & P. D. Constable (Eds.), *Veterinary medicine: A textbook of the diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horse: Part I General Medicine, Chapter 1: Special examination of the alimentary tract and abdomen of cattle*. (10th ed.). (pp.301-310). Philadelphia: Elsevier Saunders.
- Reist, M., Koller, A., Busato, A., Küpfer, U. & Blum, J. W. (2000). First ovulation and ketone body status in the early postpartum period of dairy cows. *Theriogenology*, 54, 685-701.
- Risco, C. A., Youngquist, R. S. & Shore, M. D. (2007). Postpartum uterine infections. In R. S. Youngquist & W. R. Threlfall, *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*, (2^a ed), (pp. 339-344), USA, WB Saunders, 2007.
- Roche, J. F. (2006). The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. *Animal Reproduction Science*, 96, 282-96.

- Samarütel, J., Ling, K., Waldmann, A., Jaakson, H., Kaart, T & Leesmäe, A. (2008). Field trial on progesterone cycles, metabolic profiles, body condition score and their relation to fertility in Estonian Holstein dairy cows. *Reproduction of Domestic Animals*, 43, 457-463.
- Seguin, B., Troedsson, M. H. T., Hoper, R. N., Blanchard, T. L. & Varner, D. V. (2002). Diseases of the reproductive system. In B. P. Smith, *Large Animal Internal Medicine*, (3rded), (pp.1292-1311), USA, Mosby.
- Senatore, E. M., Butler, W. R. & Oltenacu, P. A. (1996). Relationship between energy balance and post-partum ovarian activity and fertility in first lactation dairy cows. *Animal Science*, 62, 17-23.
- Shaver, R. D. (1997). Nutritional risk factors in the etiology of left displaced abomasum in dairy cows: a review. *Journal of Dairy Science*, 80, 2449-2453.
- Sheldon, I. M. (2008b). The definition of metritis. In *21 Recommendations against metritis* (pp. 8-16). Paris: Pfizer.
- Sheldon, I. M., Noakes, D. E. & Dobson, H. (2000). The influence of the ovarian activity and uterine involution determined by ultrasonography on subsequent reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*, 54, 409-419.
- Sheldon, I. M., Noakes, D. E., Rycroft, A. N. & Dobson, H. (2002). Effects of postpartum manual examination of the vagina on uterine bacterial contamination in cows. *The Veterinary Record*, 151, 531-534.
- Sheldon, I. M., Williams, E. J., Miller, A. N. A., Nash, D. M. & Herath, S. (2008a) Uterine diseases in cattle after parturition. *The Veterinary Journal*, 176, 115–121. doi:10.1016/j.tvjl.2007.12.031.
- Sheldon, I. M., Lewis, G., LeBlanc, S. & Gilbert, R. (2006). Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, 65, 1516-1530.
- Sheldon, I. M. (2004a). The postpartum uterus, *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 20, 569-591.
- Sheldon I. M., Rycroft, A.N. & Zhou, C. (2004b). Association between post-partum pyrexia and uterine bacterial infection in dairy cattle. *Veterinary Record*, 154, 289-293.
- Sinclair, K. D., Kuran, M., Gebbie, F. E., Webb, R. & McEvoy, T. G. (2000). Nitrogen metabolism and fertility in cattle. II. Development of oocytes recovered from heifers offered diets differing in their rate of nitrogen release in the rumen, *Journal of Animal Science*, 78, 2670-2680.
- Smith, B. I. & Risco, C. A. (2005). Management of periparturient disorders in dairy cattle. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 21, 503-21.
- Smith, B. I., Risco, C. A (2002). Clinical manifestation of postpartum metritis in dairy cattle. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 24, 56-63.

- Snijders, S. E. M., Dillon, P., O'Callaghan, D. & Boland, M. P. (1999). Effect of genetic merit, milk yield, body condition and lactation number on in vitro oocyte development in dairy cows. *Theriogenology*, 53, 981-989.
- Spain, J. N., Lucy, M. C. & Hardin, D. K. (2007). Effects of nutrition on Reproduction in dairy cattle. In R. S. Youngquist & W. R. Threlfall, *Current Therapy in Large Animal Theriogenology* (2nded.), (pp. 442-450). USA, WB Saunders, 2007
- Staples, C. R., Thatcher, W. W. & Clark, J. H. (1990). Relationship between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 73, 938-947.
- Studer, E. (1983). Evaluation and treatment of the postpartum reproductive tract in the cow. Part 1. A grading system *Compendium on Continuing Education* 5, 172, 489-494.
- Tamminga, S. (2006). The effect of the supply of rumen degradable protein and metabolisable protein on negative energy balance and fertility in dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 96, 227-239.
- Thatcher, W. W. & Wilcox, C. J. (1973). Postpartum estrus as indicator of reproductive status in the dairy cow. *Journal of Dairy Science*, 56, 608-610.
- Tyler, J. W. & Cullor, J. S. (2002). Mammary gland health and disorders. In B. P. Smith, *Large Animal Internal Medicine*, (3rded), (pp.1019-1038), USA, Mosby.
- Van den Top, A. M., Wensing, T., Geelen, M. J., Wentink, G. H., Van't Klooster, A. T. & Beynen, A. C. (1995). Time trends of plasma lipids and enzymes synthesizing hepatic triacylglycerol during postpartum development of fatty liver in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 78, 2208-20.
- Van Saun, R. J. (2007). Metabolic and Nutritional diseases of the Puerperal Period. In R. S. Youngquist & W. R. Threlfall, *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*, (2nd ed), (pp. 355-378), USA, WB Saunders, 2007.
- Voyvoda, H. & Erdogan, H. (2010). Use of a hand-held meter for detecting subclinical ketosis in dairy cows. *Research in Veterinary Science*, doi: 10.1016/j.rvsc.2010.04.007.
- Wathes, D. C., Fenwick, M., Cheng, Z., Bourne, N., Llewellyn, S., Morris, D. G., Kenny, D., Murphy, J. & Fitzpatrick, R. (2007). Influence of negative energy balance on cyclicity and fertility in the high producing dairy cow. *Theriogenology* 68, 232-241.
- Wattiaux, M. A. (2005). Body condition score. Babcock Institute for International Dairy Research and Development. Universidade de Wisconsin-Madison.
- Williams, E. J., Fischer, D. P., Pfeiffer, D. U., England, G. C. W., Noakes, D. E., Dobson, H. & Sheldon, I. M. (2005). Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology*, 63, 102-117.

Anexos

Anexo 1 – Folha de identificação individual

| | | | |
|-----------------------|--------------------|-------------------|---------------------|
| Identificação: | | Data: | |
| | | | |
| Nº Partos: | Data parto: | C.C parto: | C.C secagem: |

| | | | | | | | | | | |
|--------------------------------------|-------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|
| Puerpério (até D10 pós-parto) | | | | | | | | | | |
| | DIAS | | | | | | | | | |
| T°C | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| 38,4 - 39,4°C | | | | | | | | | | |
| Score vagina | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| 0 - 4 | | | | | | | | | | |
| C. Cetônicos | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Sangue (Ap) | | | | | | | | | | |
| Sangue (BHB) | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | |
| Ureia | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| | | | | | | | | | | |

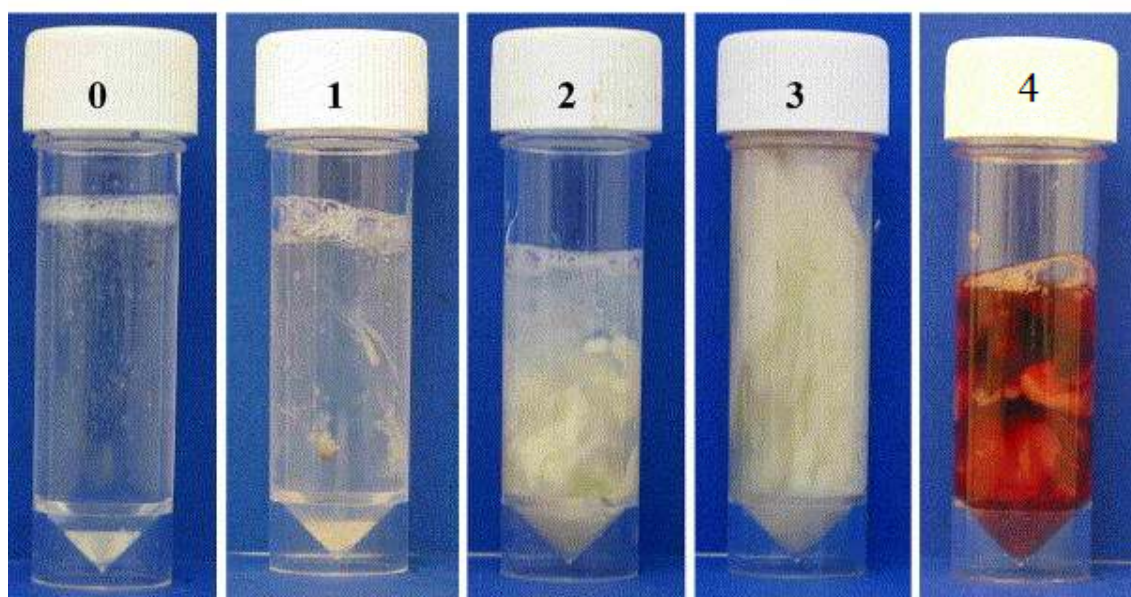
| | |
|----------------------------------|--------------|
| Puerpério (D30 pós-parto) | |
| C. Corporal | Ureia |
| | |
| Exame ginecológico: | |
| | |

| | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|--|
| Observações: | | | | | | |
| Doenças relacionadas com o parto: | | | | | | |
| | | | | | | |
| Datas: | | | | | | |
| Cios | | | | | | |
| I. Artificial | | | | | | |
| D. gestação | | | | | | |

Legenda:

Ca - Hipocalcemia ; Ce - Cetonemia ; Ma - Mastite ; Me - Metrite ; RP - Retenção Placentária ; DAb - Deslocamento do abomaso ;

Anexo II – Exemplificação da pontuação do “score” vaginal



Anexo III – Incidência e limites máximo e mínimo das DAP referidas por Kelton Lissemore & Martin (1998) e Gulay, Liboni, Hayen, & Head, (2007)

| DAP | Incidência Kelton <i>et al</i> , 1998 | Incidência Gulay et al, 2007 | Variação Kelton <i>et al</i> , 1998 |
|---------------------------|---|------------------------------------|---|
| | % | % | % |
| Claudicação | 7,0 | 3,61 | 1,8-30 |
| Retenção Placentária | 8,6 | 7,83 | 1,3-39,2 |
| Metrite Puerperal clínica | 10,1 | 17,47 | 2,2-37,3 |
| Mastite | 14,2 | 5,42 | 1,7-54,6 |
| Deslocamento do Abomaso | 1,7 | 3,61 | 0,3-6,3 |